

MARIA LUIZA DRECHSEL FÁVERO

**DESENVOLVIMENTO DE DENTIFRÍCIO COMO VEÍCULO PARA O
DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE QUÍMICO DA PLACA
BACTERIANA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, curso de Pós - Graduação em Ciências Farmacêuticas - Área de Insumos, Medicamentos e Correlatos, Departamento de Farmácia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Pontarolo
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Mayumi Eliza O. Sato

CURITIBA

2004

MARIA LUIZA DRECHSEL FÁVERO

**DESENVOLVIMENTO DE DENTIFRÍCIO COMO VEÍCULO PARA O
DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA NO CONTROLE QUÍMICO DA PLACA
BACTERIANA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - Área de Insumos, Medicamentos e Correlatos, Departamento de Farmácia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

CURITIBA

2004

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Eduardo e Elisabeth,
que me deram amor, força, princípios e ideais

Ao meu esposo, Adalberto,
pelo amor, companheirismo, compreensão e
por ser meu porto seguro

Ao meu filho, Vinícius,
alegria da minha vida e razão da minha luta

Aos meus irmãos,
pelo amor que nos une e me fortalece.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Farmácia da UFPR, pela liberação das minhas atividades para realizar este curso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, por esta oportunidade.

Ao Prof. Dr. Roberto Pontarolo, pela orientação, companheirismo e amizade, mas acima de tudo pelo exemplo profissional e dedicação.

À Prof^a Dr^a Mayumi E. O. Sato, pela co-orientação, apoio, interesse, mas acima de tudo pela amizade que conquistei.

À Prof^a Dr^a Cinthia Fadel Pichet, pela orientação na realização dos ensaios da atividade antimicrobiana.

Ao Prof. Msc. Itamar Francisco Andreazza, pela amizade e incentivo.

Aos amigos Adriane Machado e João Cleverson Gasparetto, pela grande ajuda na parte prática e, acima de tudo, pela amizade e companheirismo durante este trabalho.

Às amigas Maria da Graça, Geni e Celene que de uma maneira ou outra me auxiliaram durante esta caminhada.

Aos grandes amigos que fiz durante este curso, Elisa, Ana Cristina, Lilian, Fabiana, Carolina, Jonathan, Juliana, Maurício, Waldemar, Daniela, Keli e Jackeline, companheiros de luta.

À Heliane, pelo seu carinho e amizade.

Aos meus irmãos, Dagoberto, Eduardo, Gilberto e, em especial, Graciela e Sueli, e à minha sobrinha Kaciane pelo apoio, carinho e atenção nestes momentos difíceis.

Ao meu esposo, Adalberto e filho, Vinícius que me apoiaram e souberam entender a minha ausência e falta de tempo.

Aos meus pais, Eduardo e Elisabeth, pelo amor, exemplo e por serem alicerce para a minha vida.

À Deus, que me deu a vida, saúde e força nestes momentos difíceis.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e siglas.....	v
Lista de Tabelas.....	vii
Lista de Figuras.....	viii
Resumo.....	x
Abstract.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 PLACA BACTERIANA.....	3
2.1.1 Definição de placa bacteriana.....	3
2.1.2 Composição da placa bacteriana.....	4
2.1.3 Mecanismo de retenção da placa bacteriana.....	5
2.1.4 Controle da placa bacteriana.....	6
2.2 CLOREXIDINA.....	10
2.2.1 Descrição.....	10
2.2.2 Mecanismo de ação.....	11
2.2.3 Propriedades.....	11
2.2.3.1 Substantividade.....	11
2.2.3.2 Eficácia.....	13
2.2.3.3 Desenvolvimento de resistência.....	14
2.2.3.4 Segurança.....	14
2.2.4 Espectro de ação.....	16
2.2.5 Indicações.....	16
2.2.6 Usos e posologia.....	18
2.2.7 Absorção e eliminação.....	20
2.2.8 Efeitos adversos.....	21
2.3 DENTIFRÍCIOS.....	23
2.3.1 Componentes de um dentifrício.....	24
2.3.1.1 Abrasivos.....	24
2.3.1.2 Umectantes.....	27
2.3.1.3 Solventes.....	28
2.3.1.4 Espessantes.....	29
2.3.1.5 Tensoativos.....	32

2.3.1.6 Aromatizantes.....	34
2.3.1.7 Edulcorantes.....	35
2.3.1.8 Conservantes.....	36
2.3.1.9 Corantes.....	36
2.3.2.0 Agentes terapêuticos.....	37
3 ESTUDO DE ESTABILIDADE.....	40
4 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA.....	42
4.1 ESPECIFICIDADE.....	43
4.2 EXATIDÃO.....	44
4.3 PRECISÃO.....	45
4.4 LINEARIDADE E FAIXA DE TRABALHO.....	47
5 OBJETIVOS.....	48
5.1 OBJETIVO GERAL.....	48
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	48
6 MATERIAL E MÉTODOS.....	49
6.1 MATERIAIS.....	49
6.1.1 Substância química de referência.....	49
6.1.2 Cepas padrões de microorganismos.....	49
6.1.3 Reagentes e materiais de laboratório.....	49
6.1.4 Matérias-primas e material de embalagem.....	50
6.1.5 Equipamentos.....	50
6.2 MÉTODOS.....	51
6.2.1 Preparo do dentifrício.....	51
6.2.2 Controle de qualidade da matéria-prima clorexidina.....	52
6.2.3 Parâmetros de qualidade do produto acabado.....	52
6.2.3.1 Avaliação das características organolépticas.....	52
6.2.3.2 Determinação do pH.....	52
6.2.3.3 Determinação da densidade.....	52
6.2.3.4 Avaliação da consistência.....	52
6.2.3.5 Avaliação das características reológicas.....	52
6.2.3.6 Avaliação do teor do princípio ativo (clorexidina).....	53
6.2.3.7 Avaliação da atividade antimicrobiana.....	53
6.2.4 Estudos preliminares da estabilidade do produto acabado.....	54

6.2.5 Desenvolvimento e validação do método de doseamento da clorexidina por CLAE.....	54
6.2.5.1 Desenvolvimento do método.....	54
6.2.5.2 Validação.....	56
6.2.6 Avaliação da influência de componentes químicos na estabilidade do produto acabado.....	57
6.2.7 Análise estatística dos resultados.....	58
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
7.1 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE DOSEAMENTO DA CLOREXIDINA POR CLAE.....	58
7.1.1 Desenvolvimento	58
7.1.2 Validação.....	60
7.1.2.1 Especificidade.....	61
7.1.2.2 Linearidade.....	63
7.1.2.3 Sensibilidade.....	64
7.1.2.4 Exatidão.....	64
7.1.2.5 Precisão.....	64
7.1.2.6 Análise da pasta dentifrícia comercial com clorexidina Marca CARIAX®.....	66
7.2 ANÁLISE DA MATÉRIA PRIMA CLOREXIDINA.....	69
7.3 DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO DO DENTIFRÍCIO.....	69
7.4 CONTROLE DE QUALIDADE DO PRODUTO ACABADO.....	73
7.5 ESTUDO PRELIMINAR DA ESTABILIDADE DO PRODUTO ACABADO.....	79
8 CONCLUSÕES.....	97
9 REFERÊNCIAS.....	98
10 ANEXOS.....	105

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABO –	Associação Brasileira de Odontologia
a. C.-	antes de Cristo
ADA –	<i>American Dental Association</i>
ANVISA –	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC -	<i>American Type Cell Culture</i>
CLAE -	Cromatografia Líquida de alta eficiência
CV –	Coeficiente de variação
DLL –	Dispositivo de liberação lenta
DP –	Desvio padrão
EPM –	Erro padrão da média
FDA –	<i>Food and Drug Administration</i>
FIOCRUZ –	Fundação Oswaldo Cruz
GUNA –	Gengivite ulcerativa necrozante aguda
HAL –	Pasta dentifrícia sabor hortelã na embalagem de alumínio
HPL –	Pasta dentifrícia sabor hortelã na embalagem plástica
HPLC –	<i>High performance liquid chromatography</i>
ICH –	<i>International Conference on Harmonization</i>
INCQS –	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
MAL –	Pasta dentifrícia sabor morango na embalagem de alumínio
MPL –	Pasta dentifrícia sabor morango na embalagem plástica
P.A. –	Para análise
R –	Coeficiente de correlação
RDC –	Resolução de Diretoria Colegiada
RE -	Resolução
RPM -	Rotações por minuto
SIDA –	Síndrome da imunodeficiência adquirida
Tr –	Tempo de retenção
UR –	Umidade relativa
USP –	<i>United States Pharmacopoeia</i>

USP – DI – *United States Pharmacopoeia – Drug Information*

UV – VIS – Ultravioleta - visível

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – ZONAS CLIMÁTICAS ADOTADAS PELA USP (1995).....	41
TABELA 2 – ELEMENTOS NECESSÁRIOS PARA A VALIDAÇÃO.....	44
TABELA 3 – FORMULAÇÃO DOS DENTIFRÍCIOS.....	51
TABELA 4 – COMPOSIÇÃO DAS PREPARAÇÕES.....	57
TABELA 5 – PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS DO MÉTODO DESENVOLVIDO.....	59
TABELA 6 – RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DA CLOREXIDINA PADRÃO NA PASTA DENTIFRÍCIA (%) (n=9).....	66
TABELA 7 – RESULTADOS DO ENSAIO DE REPETIBILIDADE (%) (n=9).....	67
TABELA 8 – RESULTADOS DO ENSAIO DE PRECISÃO INTERMEDIÁRIA (%) (n=9).....	68
TABELA 9 – FORMULAÇÕES DE DENTIFRÍCIOS DESENVOLVIDAS.....	72
TABELA 10 – COMPOSIÇÃO DAS PASTAS DENTIFRÍCIAS.....	73
TABELA 11 – PARÂMETROS DE QUALIDADE DA PASTA DENTIFRÍCIA DE CLOREXIDINA A 0,6%.....	74
TABELA 12 – RESULTADOS DOS PARÂMETROS MONITORADOS NO ESTUDO DE ESTABILIDADE DA PASTA PEDIÁTRICA NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO (n=3).....	80
TABELA 13 - RESULTADOS DOS PARÂMETROS MONITORADOS NO ESTUDO DE ESTABILIDADE DA PASTA PEDIÁTRICA NA EMBALAGEM PLÁSTICA (n=3).....	81
TABELA 14 - RESULTADOS DOS PARÂMETROS MONITORADOS NO ESTUDO DE ESTABILIDADE DA PASTA PARA USO ADULTO NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO (n=3).....	82
TABELA 15 - RESULTADOS DOS PARÂMETROS MONITORADOS NO ESTUDO DE ESTABILIDADE DA PASTA PARA USO ADULTO NA EMBALAGEM PLÁSTICA (n=3).....	83
TABELA 16 – RESULTADO DO TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA PARA A PASTA DE USO ADULTO NA EMBALAGEM PLÁSTICA (n=9).....	84

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – FÓRMULA ESTRUTURAL DA CLOREXIDINA.....	10
FIGURA 2 – SISTEMA PREPARADO COM O USO DE “TEMPLATE” PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA PELO MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR.....	53
FIGURA 3 - CROMATOGRAMA OBTIDO PARA A PASTA DENTIFRÍCIA PEDIÁTRICA COM CLOREXIDINA NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO NO T0.....	60
FIGURA 4 – CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO DE CLOREXIDINA.....	61
FIGURA 5 – CROMATOGRAMA DA SACARINA.....	62
FIGURA 6 – CROMATOGRAMA DO METILPARABENO.....	62
FIGURA 7 - CROMATOGRAMA OBTIDO PARA A PASTA DENTIFRÍCIA PARA USO ADULTO COM CLOREXIDINA NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO NO T0.....	63
FIGURA 8 – CURVA DE CALIBRAÇÃO DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA...	65
FIGURA 9 – CROMATOGRAMA DA PASTA DENTIFRÍCIA CARIAX®, COM CLOREXIDINA.....	67
FIGURA 10 – CROMATOGRAMA DA PASTA PEDIÁTRICA NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO NO T0 (n=3).....	75
FIGURA 11 – HALOS DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DO <i>Staphylococcus aureus</i> FRENTE À PASTA DENTIFRÍCIA PARA USO ADULTO NA EMBALAGEM PLÁSTICA NO T0.....	76
FIGURA 12 – REOGRAMAS DA PASTA DENTIFRÍCIA PEDIÁTRICA.....	78
FIGURA 13 – REOGRAMAS DA PASTA DENTIFRÍCIA PARA USO ADULTO.....	78
FIGURA 14 – REOGRAMAS DA PASTA PEDIÁTRICA NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO (n=3).....	85
FIGURA 15 – REOGRAMAS DA PASTA PEDIÁTRICA NA EMBALAGEM PLÁSTICA (n=3).....	87
FIGURA 16 – REOGRAMAS DA PASTA PARA USO ADULTO NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO (n=3).....	89
FIGURA 17 – REOGRAMAS DA PASTA PARA USO ADULTO NA EMBALAGEM PLÁSTICA (n=3).....	91

FIGURA 18 – CROMATOGRAMA DA SUSPENSÃO DE CLOREXIDINA E CARBONATO DE CÁLCIO.....	93
FIGURA 19 – CROMATOGRAMA DA SUSPENSÃO DE CARBONATO DE CÁLCIO E METILPARABENO.....	94
FIGURA 20 – CROMATOGRAMA DA SUSPENSÃO DE CARBONATO DE CÁLCIO, CLOREXIDINA E METILPARABENO.....	94
FIGURA 21 – CROMATOGRAMA DA PASTA DENTIFRÍCIA ADICIONADA DE p- CLOROANILINA.....	95

RESUMO

A prevenção e tratamento das principais patologias bucais (cárie e doença periodontal), devem estar baseados no controle da placa microbiana, considerada como seu principal fator etiológico. Os recursos mecânicos de controle da placa consomem tempo e necessitam de motivação, conscientização, habilidade técnica e perseverança por parte das pessoas. O controle químico pode ser utilizado como um adjuvante ou substituto dos procedimentos mecânicos. A clorexidina é um composto químico bactericida de uso tópico, do grupo das biguanidinas com propriedades catiônicas e que apresenta um largo espectro antibacteriano, sendo utilizado na odontologia para limpar campos operatórios, desinfetar canais radiculares, inibir a formação da placa, cáries e gengivite. O presente trabalho teve por objetivo desenvolver um dentifrício como veículo do digluconato de clorexidina para o controle químico da placa bacteriana. Para isto foi necessário definir as matérias primas necessárias à formulação, submetê-las ao controle de qualidade e desenvolver o dentifrício. Após, desenvolveu-se e validou-se um método de extração e doseamento por cromatografia líquida de alta eficiência da clorexidina na pasta dentifrícia. O método desenvolvido apresentou linearidade, especificidade, exatidão e precisão. Os dentifrícios foram submetidos a estudos preliminares de estabilidade (40 °C – 75 % UR) e foram monitorados os parâmetros pH, densidade, consistência, viscosidade, características organolépticas, características reológicas (pseudoplásticas e tixotropia) e doseamento no tempo zero, um, dois e três meses. Foi avaliada também a atividade antimicrobiana frente aos microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans* e *Cândida albicans* no tempo zero e três meses. Durante o período monitorado (3 meses), não foi observada alteração nos valores de pH, densidade, consistência, viscosidade e características reológicas. Houve um decréscimo do teor de clorexidina a partir do terceiro mês, com a formação de um possível produto de degradação. A atividade antimicrobiana, nas condições do ensaio, não se alterou, mesmo quando houve um decréscimo do teor da clorexidina.

ABSTRACT

The prevention and treatment of the main oral pathologies (dental caries and periodontal disease) must be based on the microbial plaque control, considered as its main etiologic factor. The mechanical resources to control the plaque take time and require motivation, consciousness, technical skill and perseverance by the people. The chemical control can be used associated to or as a substitute to the mechanical procedures. The chlorhexidine is a topic bactericide chemical compound, of the biguanidines group, that presents cationic properties and shows a wide antibacterial spectra, being used in odontology to clean surgical fields, disinfect radicular ducts, inhibit the formation of plaque, caries and gingivitis. The present work aimed to develop a dentifrice as a vehicle for the chlorhexidine digluconate to control chemically the bacterial plaque. Being so, it was necessary to define the needed raw materials for the formulation, submit them to the quality control and develop the dentifrice. After that, an extraction and dosing method by high performance liquid chromatography of the chlorhexidine in the toothpaste was developed and validated. The developed method has shown linearity, specificity, accuracy and precision. The dentifrice was submitted to the preliminary study of stability (40 °C – 75 % RU) and the pH, density, consistency, viscosity, organoleptic characteristics, rheologic characteristics (pseudoplastic and thixotropic) and dosing parameters were monitored in zero, one, two and three months. The antimicrobial activity of the dentifrice before the *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* microorganisms was evaluated in the times zero and three months. During monitored time (three months), alterations were not observed in the values of pH, density, consistency, viscosity and rheologic characteristics. There was a decrease in the chlorhexidine content from the third month on, with the formation of a possible degradation product. The antimicrobial activity has not altered during the tests, not even when there was a decrease in the chlorhexidine content.

1 INTRODUÇÃO

As afecções periodontais, um dos principais problemas da odontologia atual, são doenças que atingem o periodonto, ou seja, as estruturas que suportam e protegem o dente, que incluem a gengiva, osso alveolar, cemento e ligamento periodontal.

A doença periodontal e cárie são produzidas pela placa microbiana que é uma entidade organizada, proliferante, enzimaticamente ativa que se adere firmemente à superfície dos dentes e é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) o fator etiológico fundamental destas patologias.

Os microorganismos da placa microbiana alojam-se sobre toda a superfície dental e, principalmente, no sulco gengival onde a higiene natural, promovida pelo fluxo salivar, língua, abrasão dos alimentos e dos lábios não proporciona ação eficiente.

A prevenção e o tratamento destas patologias bucais baseiam-se no controle da placa microbiana, que pode ser de natureza mecânica e/ou química. A remoção mecânica exercida através da escovação, fio dental e outros é um meio seguro para a eliminação da placa, mas deve ser realizada diariamente e exige tempo, motivação, habilidade e conscientização por parte das pessoas. Além disso, muitos pacientes deficientes física e mentalmente são incapazes de conduzir as técnicas estabelecidas, pois apresentam dificuldades motoras e de concentração.

Assim sendo, várias substâncias têm sido desenvolvidas para exercerem um controle químico da placa como substitutos ou coadjuvantes dos procedimentos mecânicos, destacando-se a clorexidina, o flúor, o cloreto de cetilpiridíneo e o triclosan.

A clorexidina é um composto químico bactericida de uso tópico que apresenta um largo espectro antibacteriano com uso eficaz em várias áreas médicas.

Na odontologia clínica, a clorexidina é utilizada para limpar campos operatórios, desinfetar canais radiculares, inibir a formação da placa, cáries e gengivite.

Outra propriedade importante é a capacidade de adsorção no esmalte dos dentes e na mucina salivar, com posterior liberação, exercendo assim um efeito residual.

A formulação dentifrícia tem por finalidade auxiliar na manutenção da saúde bucal através da limpeza mecânica dos dentes, devendo apresentar um aspecto uniforme, serem estáveis, inócuas, agradáveis, podendo ou não veicular agentes terapêuticos e/ou profiláticos para a prevenção das afecções periodontais.

O presente trabalho teve como objetivos o desenvolvimento de um dentifrício como veículo para a clorexidina, especialmente indicado para pacientes com dificuldades motoras ou mentais; o desenvolvimento e a validação de um método de doseamento da clorexidina e o estudo preliminar acelerado de estabilidade do dentifrício desenvolvido.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PLACA BACTERIANA

2.1.1 Definição da placa bacteriana

A primeira preocupação com a placa dental data de 3000 anos a.C., com o relato dos sumérios que já usavam palitos para a limpeza dental (SINNES et al., 1997). Segundo CAUDURO (1978) e DENARDI (1994), “a placa microbiana é o principal agente etiológico da cárie e doença periodontal.” Atualmente, a doença periodontal constitui um dos principais problemas da odontologia.

PIOCHI (1994) conceitua a placa bacteriana ou placa dental como uma massa densa não calcificada, estruturada, constituída por microrganismos envolvidos numa matriz rica em polissacarídeos extracelulares bacterianos e glicoproteínas salivares, firmemente aderida aos dentes, cálculos e outras superfícies duras da cavidade bucal.

Pesquisadores escandinavos, liderados por Harold Løe, em 1965 e 1970, provaram que a doença periodontal e a cárie são infecções causadas pela placa bacteriana e que sua completa eliminação é capaz de detê-las, com retorno à normalidade dos tecidos (WITT, 1978).

A colonização da superfície dentária tem início na área gengival. Durante um dia normal, o número de microrganismos nestas superfícies aumenta por multiplicação e por retenção. Se não removida, esta placa continua a crescer e poderá, especialmente ao redor da margem gengival e nas superfícies interdentárias, atingir uma considerável espessura. Quando a placa bacteriana é deixada acumular-se livremente sobre a superfície dos dentes desenvolve-se a gengivite e, com o retorno aos hábitos normais de higiene, como a escovação, as gengivas voltam ao seu estado de normalidade. Isto gera uma relação de causa e efeito entre ambas (LÖE, 1978).

A gengivite é caracterizada por vasodilatação, marginação leucocitária, migração celular e edema. Como não ocorre lesão óssea, a gengivite pode ser reversível a partir da remoção do agente agressor, a placa bacteriana. Porém, se o agente agressor se mantiver e pela evolução do

quadro, haverá um desencadeamento da resposta imunológica, resultando em produção de prostaglandinas, estimulação dos osteoclastos e ativação de enzimas como proteases e collagenases. Assim, uma resposta que presumivelmente parece ser benéfica, passa a atuar como fator de destruição acelerada das estruturas de suporte do dente, com reabsorção óssea, retração gengival e formação de pseudobolsas entre o osso e o dente. Os dentes ficam com extrema mobilidade, sendo necessário proceder a extração ou pode ocorrer a queda dos mesmos. A partir do momento em que ocorre envolvimento do periodonto de sustentação (ligamento periodontal, osso alveolar e cemento) o processo é chamado de periodontite, sendo irreversível. Segundo ROSING e TOLEDO (1993) essa patologia se dá pelo desequilíbrio entre o agente agressor e a defesa do hospedeiro.

2.1.2 Composição da placa microbiana

A placa bacteriana é constituída de 70 a 80% por microrganismos e 30% por elementos não microbianos, como por exemplo, polissacarídeos, mucina salivar, detritos alimentares, leucócitos, enzimas, sais minerais, proteínas e células epiteliais descamadas (CAUDURO, 1978) (JORGE, 1995). Localiza-se no sulco gengival e no colo dos dentes, difere na composição a nível supra e subgengival, com características predominantemente gram positivas e gram negativas, respectivamente.

Em locais de difícil acesso, como por exemplo, as fissuras, os espaços proximais e as superfícies oclusais, onde a limpeza natural (promovida pelo fluxo salivar, língua, abrasão dos alimentos e dos lábios) não proporciona ação eficiente, uma pequena quantidade de placa é suficiente para causar o início do processo de cárie. Já nas superfícies lisas, é necessário uma retenção da placa dentária com maior adesividade.

Segundo JORGE (1995), o conhecimento da microbiota bucal é dificultado pela grande variedade de condições ambientais e microrganismos. Devido a isto, a maioria dos pesquisadores estuda os microrganismos em grupos, mais comumente encontrados.

Entre eles, tem-se:

- 1) Cocos gram positivos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*; *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus milleri*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*.
- 2) Cocos gram negativos: *Neisseria* e *Veillonella*.
- 3) Bacilos gram positivos não esporulados: *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. casei*), *Corynebacterium* e *Actinomyces*.
- 4) Bacilos gram negativos retos e encurvados: *Bacteróides* (*B. fragilis*, *B. oris*, *B. buccae*) e *Fusobacterium*.
- 5) Bacilos gram negativos móveis vibrinóides: *Campylobacter*.
- 6) Bacilos gram negativos anaeróbios facultativos: *Haemophilus*, *Actinobacillus*.
- 7) Espiroquetas: *Treponema* (*T. denticola*).
- 8) Micoplasmas: *Mycoplasma* (*M. buccale*, *M. orale*, *M. salivarium*).
- 9) Fungos: *Candida albicans*.

Segundo CAUDURO (1978), a etiopatogenia da doença periodontal decorrente da placa não é por invasão dos tecidos, mas sim pela elaboração e liberação de substâncias que produzem reações inflamatórias. E, de acordo com as pesquisas realizadas, passou-se a aceitar que a responsabilidade de produção da placa aderente, difícil de remover e causal da iniciação do processo de cárie no esmalte, está intimamente relacionada com o *Streptococcus mutans*.

A associação do *Streptococcus mutans* com cáries em humanos é bem estabelecida. Em modelo animal experimental e em humanos, vários estudos longitudinais têm mostrado claramente a associação entre a presença e número deste microrganismo na saliva, a placa dental e cáries (BOWDEN, 1996).

2.1.3 Mecanismos de retenção da placa bacteriana

O mecanismo de retenção dos microrganismos pode ser dividido em duas categorias: adesivo e não-adesivo (JORGE, 1995).

A. Retenção adesiva:

- 1) Glicocálice bacteriano: polissacarídeo externo à parede celular bacteriana, que em contato com a superfície dentária, gera forças atrativas como pontes de hidrogênio, formação de par iônico e

interação dipolo–dipolo. Ex.: cápsulas de natureza polissacarídica.

- 2) Pili ou fímbrias: estruturas alongadas que auxiliam na formação de uma “ponte” de contato entre as bactérias e o dente.
- 3) Adesinas: moléculas das bactérias que reconhecem receptores específicos da superfície dentária, das células epiteliais ou da película adquirida; podem ser proteínas ou enzimas.
- 4) Camada de hidratação: quando imersa em saliva, a carga negativa da superfície do esmalte é neutralizada por íons de cargas opostas, formando a camada de hidratação ou de *Stern*. A camada de hidratação consiste principalmente em cálcio e fosfato. Os íons livres podem agir como fator de união, diminuindo o espaço entre as bactérias e o dente.
- 5) Polímeros bacterianos extracelulares: formados a partir da sacarose e outros açúcares, criando adesão entre os microrganismos e as estruturas do dente.
- 6) Polímeros salivares: constituintes salivares envolvidos na fixação inicial e no acúmulo de bactérias ao esmalte.
- 7) Aderência entre microrganismos: constituintes de superfície de um microrganismo se ligam a constituintes de outros microrganismos, de mesma espécie ou de espécies diferentes. Ex.: *S. sanguis* e *S. mutans*: adesão em superfícies duras; *S. salivarius* tem preferência por epitélio de língua e bochecha.

B. Retenção não–adesiva:

Retenção mecânica nas fossas, fissuras de dentes, lesões de cáries, sulco gengival, bolsa periodontal ou através de partículas alimentares como veículos. Ex.: lactobacilos, espiroquetas, fungos e *Prevotella melaninogenica*.

2.1.4 Controle da placa bacteriana

A partir do momento que a placa dental foi considerada o fator causal principal da cárie e doenças periodontais, é de suma importância o controle e prevenção para diminuir a incidência destas patologias bucais.

BOWDEN (1996) constata que, apesar do *Streptococcus mutans* estar intimamente associado com o risco de formação de cárie, deve-se ter precaução em afirmar que uma concentração alta deste microrganismo na flora bucal de pacientes implica um alto risco ou nível das mesmas. Isto se deve ao fato de que a natureza das cáries é multifatorial. As pessoas que apresentam uma alta incidência de cáries podem ser identificadas como tendo não somente esta bactéria, mas também outro microrganismo, além da dieta, a fisiologia oral interferente e as defesas do organismo como fatores causais.

Segundo LINDHE (1992) a resposta à placa varia consideravelmente entre as pessoas e para prevenir o desenvolvimento da doença periodontal, as medidas de higiene devem visar à inibição da formação da placa ou, quando não for possível, à redução da quantidade de placa formada em concentrações tais que não se desenvolva doença inflamatória destrutiva.

O controle da placa bacteriana pode ser realizado de duas formas distintas ou combinadas: o mecânico e o químico. Dentre os meios preventivos de natureza mecânica, tem-se o uso da escova dental, fio dental e outros mais atuais, como por exemplo, a escova elétrica e os aparelhos com jatos d'água pulsátil.

Para que o controle mecânico da placa bacteriana seja bem sucedido, fatores como tempo de escovação, frequência, técnica utilizada, motivação, perícia, habilidade e perseverança são essenciais para se manter um alto padrão de limpeza. Há necessidade ainda de um grande grau de conscientização por parte da população. Além disso, uma escovação eficiente possui efeito limitado nos espaços interdentais, onde existe uma alta prevalência de gengivites.

LACAZ NETTO et al. (1987) observaram uma série de estudos clínicos realizados em crianças que demonstravam que uma intensa educação e instrução em higiene bucal com supervisão diária da escovação dentária durante um período de três anos levaram a uma redução da inflamação gengival, mas foram insuficientes para criar hábitos por longos períodos de tempo.

TORRES et al. (2000) comentaram ainda que, em trabalhos desenvolvidos na década de 80, foi observado que após a remoção total da placa por profilaxia profissional e orientação, após três meses, o índice de

placa atingiu 60 a 80% do inicial, concluindo-se que, em função do tempo, as pessoas desmotivam-se em relação à limpeza dos dentes.

SEERIG, ZANON e ANZILIERO (2003) enfatizam que outro fator importante a ser considerado é com relação a pacientes com necessidades especiais, como por exemplo, deficientes motores e mentais, que normalmente apresentam dificuldades psicomotoras para realizarem a higiene oral por meios mecânicos adequados, sendo que o controle químico da placa bacteriana passa a ser um valioso aliado na manutenção da saúde bucal destes pacientes.

Segundo WITT (1978) a prevenção da placa bacteriana por meios químicos já foi utilizada em 1889 por MILLER, mas não obteve sucesso por serem os anti-sépticos muito tóxicos ou apresentarem efeitos colaterais indesejáveis. Vários agentes químicos, entre eles antibióticos, enzimas e agentes tensoativos, têm sido testados e avaliados quanto à sua capacidade de inibirem a formação de placa como substitutos ou coadjuvantes dos procedimentos mecânicos.

Algumas propriedades devem ser levadas em consideração para a seleção de um agente químico antimicrobiano, como:

- Eficácia: deve ser eficaz contra os microrganismos envolvidos na etiologia da gengivite e periodontite.
- Toxicidade: devem ser inócuos aos tecidos bucais ou a interação com estes deve ser conhecida e sua segurança comprovada.
- Segurança: deve ser testado em animais antes do seu emprego na clínica. Efeitos colaterais devem ser investigados cuidadosamente em estudos nos seres humanos.
- Permeabilidade aos tecidos: deve ser baixa, considerando os efeitos sistêmicos das substâncias para a saúde.
- Microbiota residente: não deve provocar desequilíbrios, pois isto levaria a outras doenças decorrentes da proliferação de microrganismos oportunistas e não proporcionar o desenvolvimento de cepas de bactérias resistentes.
- Substantividade (retentividade): é a capacidade do produto permanecer retido no local de ação (superfície dental, gengiva e mucosa bucal) e ativo, sendo liberado lentamente, evitando

que seu efeito seja rapidamente neutralizado pelo fluxo salivar. No tratamento de infecções causadas pela placa dental, a substantividade do agente antimicrobiano é muito importante, já que os agentes necessitam de um certo tempo de contato para inibir ou matar um microrganismo.

- Estabilidade: os agentes químicos devem ser estáveis à temperatura ambiente por tempo considerável.

A substância selecionada deve reunir o maior número possível destas características e sua efetividade ser comprovada por estudos tanto laboratoriais quanto clínicos. Os produtos disponíveis no mercado não preenchem a todos os requisitos citados, apresentando alguns efeitos colaterais ou pouca eficácia (SINNES et al., 1997).

LINDHE (1992) comenta que os agentes químicos foram classificados de acordo com sua substantividade. Certos antibióticos, compostos quaternários de amônio, compostos fenólicos, agentes oxidantes, fluoretos e alcalóides têm baixa substantividade e são referidos como antimicrobianos de primeira geração. Antimicrobianos de segunda geração possuem substantividade elevada, como por exemplo, as biguanidas, e os de terceira geração, são os que interferem com a aderência bacteriana às superfícies dentárias ou a evitam.

O *Council on Dental Therapeutics* da *American Dental Association* (ADA) controla e aprova os agentes antimicrobianos de controle da placa, definindo que os mesmos devem ser avaliados em um teste clínico de placebo por seis meses ou mais e demonstrar uma melhora significativa da saúde gengival em comparação com os controles (CARRANZA e NEWMAN, 1992).

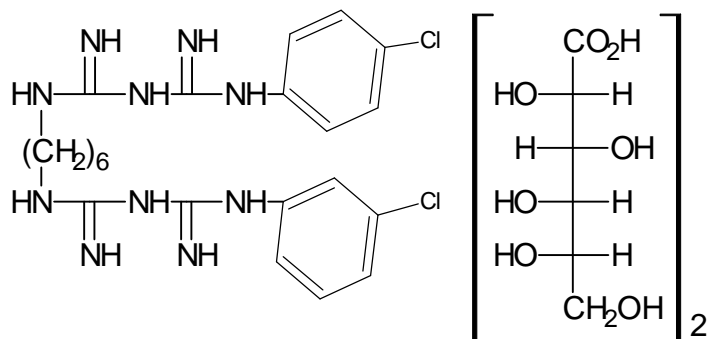
Existem vários veículos que liberam estes agentes químicos na cavidade oral, como por exemplo, colutórios, dentifrícios, géis, dispositivos para depósito, vernizes, gomas de mascar e pastilhas. O veículo ideal deve reunir características como a compatibilidade com o agente ativo, adequada biodisponibilidade do agente ativo no local da ação, além de uma boa aceitação por parte do paciente (TORRES et al., 2000).

2.2 CLOREXIDINA

2.2.1 Descrição

A clorexidina é um composto químico sintetizado em laboratório em 1954 por Davies, Francis, Martin, Rose e Swain, definida como uma biguanidina catiônica que apresenta uma molécula simétrica, consistindo de dois anéis 4-clorofenil e dois grupos biguanida conectados por uma cadeia de hexametileno central (1,1'-hexametilenobis [5-(p-clorofenil)biguanida]).

FIGURA 1 – FÓRMULA ESTRUTURAL DA CLOREXIDINA



A clorexidina, dentre os anti-sépticos de uso oral, é um dos agentes antimicrobianos mais potentes e cuidadosamente estudados; é altamente eficaz e em geral utilizada como padrão contra o qual é medida a potência de outros agentes (TORRES et al., 2000). Pode apresentar-se na forma de diversos sais, como o gluconato, digluconato, acetato e hidrocloreto, sendo que a digluconato é a mais indicada por ter maior solubilidade em água e em pH fisiológico dissocia-se liberando o componente catiônico.

A fórmula molecular é $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2 C_6H_{12}O_7$, PM = 897,77, densidade = 1,06 g / cm³ e ponto de ebulição = 134 °C (USP, 2002).

A apresentação na forma de bochecho é aceita tanto pelo FDA como pela ADA para a redução da inflamação gengival, sendo o enxaguatório antibacteriano mais estudado (CARRANZA, NEWMAN, 1992).

2.2.2 Mecanismo de ação

Segundo a USP DI (2003), em baixas concentrações, a clorexidina é bacteriostática e em altas concentrações, é bactericida. Devido a sua carga positiva, é adsorvida sobre a hidroxiapatita do esmalte dos dentes, proteínas salivares, placa e macromoléculas ácidas das superfícies orais. Através destes locais de retenção o fármaco é gradualmente liberado por difusão e a concentração na boca é mantida em um nível suficiente para criar um meio bacteriostático por um período prolongado de tempo.

HUGO e LONGWORTH (1964) demonstraram que a molécula catiônica (positiva) da clorexidina interage com a bactéria, provavelmente em decorrência da adsorção à parede celular aniônica (negativa), alterando as estruturas da superfície e aumentando a permeabilidade da membrana bacteriana facilitando a entrada da clorexidina no citoplasma. O equilíbrio osmótico é perdido e, em conseqüência, ocorre uma precipitação dos constituintes citoplasmáticos o que impede a reparação da membrana celular, causando a morte da bactéria.

2.2.3 Propriedades

2.2.3.1 Substantividade

Pesquisas têm revelado que a clorexidina, além de possuir uma ação imediata sobre os microrganismos orais devido às suas propriedades catiônicas, une-se também à hidroxiapatita do esmalte dos dentes e à mucina salivar, formando uma película orgânica na superfície dos dentes e nas proteínas salivares, que funciona como um reservatório.

Os mecanismos de adsorção e liberação gradual foram testados *in vitro* e *in vivo* com clorexidina marcada radioativamente, sendo que moléculas de clorexidina aderidas às proteínas salivares são liberadas sob a forma ativa quando a sua concentração no meio cai, o que pode ocorrer por 8 a 12 horas após a absorção inicial e após 24 horas concentrações reduzidas podem ainda ser detectadas, prevenindo assim a colonização bacteriana e o efeito inibidor residual da formação da placa dental. A absorção pela mucosa bucal não é

durável porque a contínua descamação da mucosa causa uma perda de seu efeito inibidor (LÖE, 1973; LASCALA, 1980).

A quantidade de clorexidina retida na cavidade oral aumenta quase que proporcionalmente com a concentração na forma farmacêutica. A penetração da clorexidina através da mucosa oral intacta é inexistente ou é muito limitada (BONESVOLL, LÖKKEN E RÖLLA, 1974).

SINNES et al. (1997) afirmam que em cada bochecho feito, 3 % da clorexidina é deglutida, 67 % é expectorada e 30 % fica retida adsorvida à película adquirida, às proteínas salivares e à mucosa bucal. Após o bochecho, a quantidade retida na cavidade bucal é constantemente deslocada dos seus sítios de ligação pelos íons Ca^{++} presentes na saliva.

CARRANZA (1986) cita que a propriedade de retenção foi comprovada utilizando-se clorexidina marcada com carbono radioativo e que a mesma é atribuída à sua afinidade para com os grupos sulfatos livres, radicais fosfatados e ácidos, tais como aqueles encontrados na placa, lesões cariosas, película e paredes celulares bacterianas. Afirma também que a retenção da clorexidina depende da concentração e do tempo, não sendo influenciada pela temperatura ou pH da solução.

BONESVOLL, LÖKKEN e RÖLLA (1974) mostram em experimentos uma redução na retenção em níveis baixos de pH. Segundo os autores, isto se deve ao fato de que a molécula catiônica da clorexidina se une eletrostaticamente com grupos aniônicos na cavidade oral. Os grupamentos carboxílicos da saliva e proteínas estruturais podem estar envolvidos nesta união. A ionização dos grupos carboxílicos pode ser fortemente reduzida quando o pH do compartimento circundante está abaixo de 4.

O baixo pH por si só pode também ter efeito sobre moléculas e células da cavidade oral, por exemplo, desnaturação de proteínas, e desse modo possivelmente alterar a quantidade e a natureza dos sítios de união para a clorexidina.

HUGO e LONGWORTH (1964) também concluem que a quantidade de clorexidina adsorvida aumenta com o aumento do pH e esta mudança interfere no estado de ionização das células da superfície e da própria clorexidina, interferindo assim na quantidade adsorvida.

2.2.3.2 Eficácia

A clorexidina tem se mostrado um efetivo agente antimicrobiano no tratamento de gengivite, dispersão da placa já formada e na inibição da recolonização da placa bacteriana (BASSIOUNY e GRANT, 1975; BRINER et al., 1986; SINNES et al., 1997; CURY et al., 2000). Esta ação pode ser atribuída a uma redução do número de bactérias na saliva (LÖE et al., 1976; SCHIOTT, BRINER e LÖE, 1976; SCHIOTT et al., 1976).

Os trabalhos realizados por Løe e col., Lindhe e outros mostraram que o digluconato de clorexidina sob a forma de bochechos (0,2 %), aplicação tópica (2 %) ou em pastas dentífricas (0,6 ou 0,8 %), em humanos ou animais, reduziu enormemente a formação de placa e conseqüentemente, a gengivite (LASCALA, 1980).

O decréscimo do índice de placa obtido nos trabalhos de BASSIOUNY e GRANT (1975) nas superfícies bucal, mesial e lingual indicam também um efeito anti-placa da clorexidina, particularmente em áreas menos acessíveis da boca.

LÖE (1973) e BRINER et al. (1986), em seus trabalhos clínicos, provaram que com o uso repetido da solução de clorexidina, o número de microrganismos aeróbicos e anaeróbicos na saliva foi reduzido em 80-90 %. Com o uso prolongado, o número de microrganismos salivares (aeróbicos, anaeróbicos e estreptococos) diminuiu em 50 a 90 % e nenhum crescimento de bactérias entéricas ou leveduras foi encontrado, demonstrando que a clorexidina mostrou uma potente atividade fungicida na cavidade oral.

Segundo a USP – DI (2003), após o uso de clorexidina na forma de colutório por seis meses, amostras de placa mostraram uma redução de 54 a 97 % de bactérias aeróbicas e anaeróbicas.

FARDAL e TURNBULL (1986) comentam que o gel de clorexidina tem um efeito antimicrobiano comparável a medidas mecânicas eficientes de higiene oral.

A FDA (*Food and Drug Administration*) e a ADA autorizaram o uso da clorexidina como agente efetivo para controle de placa, baseado em suas propriedades anti-placa e para o combate à gengivite (ROSENBERG, 1992; CARRANZA e NEWMAN, 1997).

2.2.3.3 Desenvolvimento de resistência

Um risco potencial com o uso regular de um agente antimicrobiano local é a possibilidade dos microrganismos adquirirem resistência ou ocorrer uma pressão seletiva na microflora oral, resultante da distribuição destes que foram menos sensíveis à clorexidina.

LÖE (1973) revisou vários trabalhos com o uso prolongado da clorexidina (7 semanas, meio ano, 2 anos) mostrando que ocorreram mínimas e pouco visíveis mudanças na susceptibilidade dos microrganismos orais.

SCHIOTT, BRINER e LÖE (1976), ao acompanharem a aplicação da clorexidina em pacientes por um período de dois anos, não detectaram mudança ou redistribuição da população microbiana salivar. O uso da clorexidina produziu redução na placa dental e gengivite sem alterar significativamente o ecossistema microbiano na saliva, levando-se em consideração os parâmetros do número de aeróbios, anaeróbios, estreptococos e microrganismos gram negativos.

A USP – DI (2003) relata que após um estudo clínico de seis meses, não se evidenciou mudança significativa na resistência bacteriana, crescimento de organismos potencialmente oportunistas, ou outras mudanças no ecossistema microbiano oral durante o uso da clorexidina. Além disso, três meses após o término do estudo clínico, o número de microrganismos na placa retornou aos níveis normais.

2.2.3.4 Segurança

A clorexidina, até o momento, apresentou baixa evidência de toxicidade sistêmica em seres humanos, além de não produzir qualquer resistência apreciável dos microrganismos da boca; também não tem sido associada a quaisquer alterações teratogênicas (CARRANZA e NEWMAN, 1997).

LINDHE (1992) relata que durante um estudo com 150 estudantes de medicina, que usaram uma solução de digluconato de clorexidina a 0,2 % durante dois anos, diversos exames, como hemograma, exame de urina e velocidade de sedimentação foram realizados em intervalos regulares. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos controle e

experimental para qualquer um dos parâmetros avaliados. Baseado nisto, afirma que a clorexidina pode ser usada com segurança por períodos prolongados.

Segundo SINNES et al. (1997), diversos testes toxicológicos mostraram que a molécula de clorexidina é altamente estável. Quando ingerida, a quase totalidade é eliminada pelas fezes, quantidades mínimas são absorvidas pelo trato intestinal e eliminadas pelas rotas normais (rins e fígado). Não há evidência de formação de para-cloroanilina, perigosa substância cancerígena. Efeitos teratológicos não foram observados.

Segundo a USP – DI (2003), a carcinogenicidade não foi observada em um estudo utilizando ratos, que receberam água com alta dose de clorexidina (38 mg/kg/dia). Esta dose é pelo menos quinhentas vezes a quantidade que pode ser ingerida pelo homem na dose diária de clorexidina colutório. Além disto, a mutagenicidade não foi observada em dois estudos *in vivo*.

Com relação à reprodução, estudos de fertilidade não tem mostrado evidências de prejuízo da mesma em ratas que receberam clorexidina em doses de 100 mg/kg/dia (dose 100 vezes maior que a dose que uma pessoa pode receber se ingerir 30 ml de clorexidina colutório por dia) (USP – DI, 2003).

Estudos controlados sobre a interferência da clorexidina na gravidez não foram realizados. Entretanto em animais, nenhuma evidência de dano para os fetos foi observada em ratos e coelhos que receberam doses de clorexidina de até 300 mg/kg/dia e até 40 mg/kg/dia, respectivamente (doses 300 e 40 vezes, respectivamente, maiores que a dose que uma pessoa pode receber se ingerir 30 ml de clorexidina colutório por dia) (USP – DI, 2003).

Apenas um efeito adverso sério foi identificado em um paciente que apresentou surdez sensorineural após aplicação direta da clorexidina dentro do ouvido médio. FARDAL e TURNBULL (1986) relatam que Aursnes identificou o dano no órgão após exposição a clorexidina e que Mackae e outros reportaram que a clorexidina também é tóxica para a córnea, mas concluem que a clorexidina parece ser um agente anti-placa seguro e efetivo, desde que se previnam vazamentos acidentais que afetem o ouvido e o olho. Estes mesmos autores reportam que, raramente, um inchaço reversível das glândulas parótidas tem sido encontrado após o uso na forma de colutório.

2.2.4 Espectro de ação

Microrganismos apresentam uma susceptibilidade variável para a clorexidina. Segundo a USP–DI (2003) os microrganismos que apresentam alta susceptibilidade para a clorexidina incluem alguns estafilococos, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Selenomonas*. *Streptococcus sanguis* possui uma susceptibilidade moderada. Microrganismos com baixa sensibilidade para a clorexidina incluem cepas de *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* e cocos gram negativos semelhantes a *Veillonella*.

Em um trabalho desenvolvido por HENESSEY (1973), a concentração inibitória mínima da clorexidina foi determinada para uma variedade de cepas bacterianas gram positivas e gram negativas, utilizando a técnica convencional de diluição em ágar, estando de acordo com o conhecimento de que a clorexidina é um agente antibacteriano de largo espectro com grande atividade contra gram positivos mais do que gram negativos.

Segundo GJERMO (1978), certas espécies de estreptococos parecem reter uma quantidade adicional de clorexidina em suas cápsulas polissacarídicas extracelulares. Isto pode estar relacionado com a alta sensibilidade dos estreptococos orais a clorexidina.

2.2.5 Indicações

A clorexidina tem sido utilizada em diversas áreas da medicina, como por exemplo, a ginecologia, urologia, oftalmologia, em queimaduras e na desinfecção de coto umbilical e da pele. Na odontologia é utilizada desde a desinfecção das mãos da equipe até indicações para aplicações curtas, curtas e intermitentes e prolongadas.

Entre as aplicações curtas, têm-se as seguintes indicações:

- ❖ Redução da placa dental.
- ❖ Antes de procedimentos cirúrgicos orais ou periodontais para prevenir bacteremias pós–cirúrgicas.
- ❖ Durante a fase de cicatrização após cirurgias periodontais.

- ❖ Durante a fase de cicatrização após intervenções cirúrgicas orais.
- ❖ Durante a terapia de ulcerações aftosas.
- ❖ Durante a terapia de estomatite protética.
- ❖ Tratamento da gengivite ulcerativa necrozante aguda (GUNA).
- ❖ Tratamento de estomatites causadas por próteses totais.
- ❖ Tratamento de fraturas de mandíbula e maxilar, onde os procedimentos convencionais de higiene oral estão contra – indicados.

Para as aplicações curtas e intermitentes, várias vezes ao ano, tem-se as seguintes indicações:

- ❖ Pacientes com deficiência física ou mental.
- ❖ Prevenção da estomatite protética recorrente.
- ❖ Manutenção de cuidados periodontais a fim de prolongar os intervalos entre as consultas de manutenção, diminuindo a incidência de gengivites.
- ❖ Pacientes que apresentam alta atividade de cárie com níveis salivares de *S. mutans* acima de 250.000/ml.
- ❖ Implantes dentais.

Para as aplicações prolongadas, têm-se as seguintes indicações:

- ❖ Deficientes físicos.
- ❖ Deficientes mentais.
- ❖ Profilaxia e tratamento de infecções orais em pacientes com câncer que estão sendo preparados para o transplante de medula óssea.
- ❖ Controle de complicações orais em pacientes leucêmicos.
- ❖ Tratamento de pacientes que tenham resistência reduzida à placa bacteriana devido a terapias em condições especiais, inclusive Síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA).
- ❖ Portadores de aparelhos ortodônticos.
- ❖ Portadores de reconstruções protéticas fixas extensas.
- ❖ Pacientes de geriatria.

Deve-se enfatizar que as enfermidades dentais constituem sérios problemas em populações incapazes mental e fisicamente. Nestes pacientes,

os procedimentos mecânicos convencionais de higiene oral devem ser freqüentemente supervisionados ou mesmo praticados por pessoal auxiliar. A clorexidina utilizada para a prevenção de placa que indiretamente causa uma redução na gengivite e cárie é extremamente valiosa, devendo-se ter o acompanhamento do uso constante, pois há necessidade de tratamento a longo prazo (FLOTRA, 1973; GJERMO, 1978; FEIST, MICHELI e SARIAN, 1989).

RUSSEL e BAY (1978) estudaram o efeito do uso diário por três minutos de uma pasta dentifrícia com 1 % de clorexidina durante dois meses na placa dental, gengivite e hiperplasia gengival em 30 crianças epilépticas e deficientes mentais tratadas com fenitoína, em um estudo duplo cego. Os resultados foram um índice de placa e índice gengival significativamente baixos. A hiperplasia gengival, que normalmente ocorre em pacientes submetidos a tratamentos com fenitoína, não foi significativamente reduzida pelo uso da pasta dentifrícia com clorexidina.

FARDAL e TURNBULL (1986) observaram que escovando os dentes uma vez ao dia por dois meses com pasta dentifrícia com 1 % de clorexidina resultou em um índice de placa e índice gengival significativamente baixos em crianças com deficiência mental e epilepsia que recebiam fenitoína.

2.2.6 Usos e posologia

A clorexidina em soluções contendo 0,02 a 0,05 % é usada no tratamento de feridas, queimaduras, anti-séptico urinário e das mucosas. Soluções de 0,5 % (álcool 70 %) é usado na anti-sepsia das mãos, da pele, na desinfecção de emergência de instrumentais previamente limpos ou para estocagem desses. É incompatível com os sabões e compostos aniônicos similares (LASCALA, 1980).

A clorexidina pode ser introduzida na cavidade oral através de várias maneiras.

- A) Bochechos: as soluções de 0,12 % a 0,2 % têm sido as mais usadas por serem reconhecidas como “Padrão Internacional” e terem sido estudadas extensivamente (DENARDI, 1994). Os bochechos devem durar 1 minuto, duas vezes ao dia, com 15 ml, o que é suficiente para prevenir a formação da placa e

o desenvolvimento de gengivite superficial, mas não a periodontite estabelecida com bolsas periodontais já formadas. Não devem ser feitos antes das refeições, pois afetam temporariamente a sensação gustativa. Não é recomendado imediatamente antes ou após a escovação com dentífricos convencionais, devido à competição pelos sítios de retenção.

- B) Irrigações: Irrigadores bucais podem representar um veículo ideal para a aplicação de agentes antimicrobianos. Uma aplicação diária de uma solução de clorexidina com concentração de 0,02 % a 0,5 % por 1 minuto pode ser clinicamente benéfica em algumas situações, uma vez que alguns efeitos indesejáveis dependem da concentração. A aplicação local possibilita ainda o uso restrito em áreas que necessitem de cuidados especiais, retardando a formação de nova placa e destruindo a já estabelecida (SINNES et al, 1997).
- C) Géis: gel a 0,5 % e 1 % é usual e comum, uma vez que requer aplicação com escova de dente ou através de moldeiras, atingindo assim toda a superfície dental. Segundo BORER *et al* (1978), é sob a forma de gel que a clorexidina apresenta menor retenção pelas superfícies da cavidade bucal. Assim, como a atividade anti-placa está relacionada com o mecanismo de retenção – liberação do medicamento, supõem-se que sob esta forma seja menos efetiva.
- D) Dentífrico: na forma de dentífrico, geralmente a 0,6 ou 0,8 %, significa uma aplicação direta nas áreas necessárias. Esta maneira de aplicar pode reduzir os indesejáveis efeitos colaterais observados pelo uso dos bochechos a longo prazo.
- E) Spray: é considerado um método de fácil aplicação, porém a sua eficiência depende da habilidade do operador em atingir todos os locais, assim como a dose empregada (DENARDI, 1994).
- F) Goma de mascar: sua vantagem é de que fica retido na cavidade oral por um período de tempo mais prolongado em

comparação com os outros métodos, porém cuidados devem ser tomados com as concentrações da clorexidina e do edulcorante utilizado na formulação (PINHEIRO et al, 1985).

- G) Dispositivos de liberação lenta (DLL): estes dispositivos empregam etilcelulose como polímero, e polietilenoglicol e etanol como solvente.

GJERMO e ROLLA (1970) usaram dentifrícios com clorexidina a 0,6 e 0,8 % aplicados com moldeiras para evitar a interferência da ação mecânica da escovação e constataram uma redução do índice de placa compatível aos resultados obtidos com bochechos. LASCALA (1997) comenta também que segundo ARMANI (1995), a utilização na forma de dentifrício pode ser feita em pacientes com qualquer tipo de periodontite, seja ela inicial, moderada ou avançada, inclusive pacientes em manutenção e controle.

2.2.7 Absorção e eliminação

Estudos farmacocinéticos indicam que aproximadamente 30 % do gluconato de clorexidina fica retido na cavidade oral após um bochecho, e posteriormente é lentamente liberado para os fluidos orais. Estudos utilizando homens e animais tem mostrado que o digluconato de clorexidina é muito pouco absorvido pelo trato gastrointestinal (USP-DI, 2003).

Em um trabalho desenvolvido por LÖE (1973), após a aplicação de uma dose de clorexidina marcada em vários sítios da molécula, esta foi quase toda excretada pelas fezes. A excreção urinária foi baixa para todas as espécies. Após combustão de diferentes órgãos, estes estavam isentos de radioatividade detectável. No fígado e no rim foram encontrados menos que 0,25 % da dose administrada, indicando que pequenas quantidades foram absorvidas, metabolizadas e excretadas por estas vias. Análise por cromatografia em camada delgada de material marcado excretado por humanos e animais indicou que a clorexidina sofreu uma mínima transformação metabólica. Nenhuma concentração de para-cloroanilina – uma possível subunidade carcinogênica - foi detectada.

Segundo a USP – DI (2003) após uma dose oral de 300 mg de digluconato de clorexidina, a excreção foi primariamente através das fezes

(aproximadamente 90 %); menos de 1 % foi excretado pela urina e 12 horas após a sua administração, a clorexidina não foi detectada no plasma.

2.2.8 Efeitos adversos

Os efeitos adversos podem ser:

- a) Pigmentação da língua, dos dentes e restaurações: é o efeito adverso mais comum e se caracteriza por uma pigmentação extrínseca amarelo-acastanhada na língua, dentes e restaurações, causando um problema estético. O grau de pigmentação varia muito de indivíduo para indivíduo e, segundo LINDHE (1992), está na dependência da concentração do composto, mas segundo FARDAL e TURNBULL (1986) ocorre independente da dose. Estas manchas são, às vezes, bastante difíceis de serem removidas, principalmente quando incorporadas em silicatos ou restaurações de resina composta e ranhuras dos dentes, sendo necessário, muitas vezes, a substituição da restauração por razões estéticas. Produtos contendo tanino, tais como chá, vinho tinto e vinho do Porto irão aumentar a taxa de pigmentação da clorexidina. A pigmentação do dorso da língua é comum, porém, sua frequência não é tão observada e desaparece quando é cessado o uso. Várias hipóteses têm sido levantadas para explicar essas pigmentações (CARRANZA, 1986; LINDHE, 1992; DENARDI, 1994; SINNES et al., 1997; USP-DI, 2003). NORBRO (1971) descreveu a pigmentação dos dentes humanos por combinação da clorexidina e aldeídos ou acetonas *in vitro*. Esses achados têm significado clínico, pois os aldeídos e acetonas são intermediários no metabolismo dos microrganismos bucais. Os aldeídos são também encontrados na glicoproteína que compõe a película adquirida. Alguns pacientes demonstram manchar os dentes mais rapidamente do que outros. Segundo FLOTRA (1973) e RUSSEL e BAY (1978), a pigmentação dos dentes e obturações também ocorre após o uso de dentifício com clorexidina, mas em menor extensão.
- b) Descamação da mucosa bucal: na concentração de 0,1 % não tem sido descrita nenhuma descamação ao nível da mucosa, porém,

observou-se em crianças e jovens a 0,2 % (LINDHE, 1992; SINNES et al., 1997).

- c) Percepção gustativa: hipogeusia (diminuição do sentido do paladar) e disgeusia (perversão transitória do paladar) ocorrem com o uso da clorexidina, sendo mais proeminentes para a percepção do doce, seguida pelo sal e sabores ácidos, com o sabor amargo menos afetado, mas parece ser de curta duração, indicando que a clorexidina deve ser aplicada após as refeições ou à noite antes de dormir (FARDAL e TURNBULL, 1986; LINDHE, 1992; USP-DI, 2003).
- d) Gosto amargo: porém, se torna aceitável a partir do segundo ou terceiro dia de uso (BASSIOUNY e GRANT, 1975).
- e) Nenhum efeito adverso sistêmico sério associado com o uso de clorexidina foi reportado durante os ensaios clínicos (DENARDI, 1994; SINNES et al., 1997; USP-DI, 2003).
- f) Calcificações: há um pequeno aumento nas deposições calcificadas supragengivais. Forma-se uma película grossa marrom, livre de placa, como depósito sobre os dentes, predispondo à formação de cálculo supragengival (DENARDI, 1994; SINNES et al., 1997; USP-DI, 2003).
- g) Reações alérgicas: são muito raras. Pode ocorrer congestão nasal, problemas respiratórios, erupção cutânea, prurido e inchaço da face (USP-DI, 2003).
- h) Inchaço das glândulas parótidas ou obstrução do ducto das parótidas, sendo muito pouco freqüente ou rara (USP-DI, 2003).
- i) Irritação da ponta da língua (USP-DI, 2003).

Vale aqui ressaltar que segundo WITT (1978), “as alterações descritas são reversíveis, uma vez cessado o uso, desaparecem os sintomas”.

Na tentativa de diminuir ou eliminar os efeitos colaterais como a coloração marron-amarelada dos dentes, descoloração dos dentes e língua, aumento da formação de cálculo, perda da sensação do paladar e descamação da mucosa bucal tem-se diminuído a percentagem do agente ativo nas formulações (ROSENBERG, 1992).

A clorexidina, como qualquer outro agente antimicrobiano potente, deve ser administrada somente sob supervisão profissional e os diferentes

métodos de aplicação devem ser adaptados às necessidades individuais do paciente.

2.3 DENTIFRÍCIOS

O decreto n.º 79.094, de 05/01/1977 define dentifrício como um produto destinado à higiene e limpeza dos dentes, dentaduras postizas e da boca, apresentados com aspecto uniforme e livres de partículas palpáveis na boca em formas e veículos condizentes, podendo ser coloridos e/ou aromatizados.

Segundo a Norma da Associação Brasileira de Odontologia (ABO) n.º 1 Dentifrício (1999), os dentifrícios são produtos destinados a auxiliar na manutenção da saúde bucal através da limpeza mecânica dos dentes e outros tecidos orais podendo ou não veicular agentes terapêuticos e/ou profiláticos para inibição da cárie, minimização da quantidade de placa dental, prevenção e tratamento da gengivite e prevenção da formação do cálculo dental.

Segundo LARA e PANZERI (1994) os dentifrícios são produtos resultantes de formulações conscientes nas quais busca-se, com a interação de uma soma de substâncias, obter um produto com qualificação equilibrada de propriedades, as quais dependem de diferentes associações.

O uso de dentifrícios, nas suas formas mais rudimentar, já era utilizado pelos gregos e romanos. Para sua confecção, utilizavam-se materiais muitas vezes exóticos, como por exemplo, pedra pôme, talco, pedra do tipo calcita granulada, pó de coral, ossos e chifres de animais, cascas de ovos e cascas de ostras.

A evolução da ciência impôs diretrizes no preparo de dentifrícios, nas apresentações líquidas, pastosas ou em pó. O desenvolvimento tecnológico que se registrou nas formulações dos dentifrícios fez com que os pós deixassem de ser procurados como produtos de utilização cotidiana e os cremes dentais tornaram-se a forma preferencial devido à facilidade e comodidade de manuseio, estabilidade e palatabilidade.

Os dentifrícios inicialmente eram exclusivamente preparados com o único propósito de promover a higiene oral, contendo apenas excipientes e adjuvantes, em uma condição cosmética, ou seja, aquela que define um sorriso

bonito. Hoje se busca obter os mais diversos efeitos, tais como antiplaca, anti-séptico e antiinflamatório.

NEWBRUN (1990) destaca que a minimização da placa bacteriana se atinge com o controle mecânico através da escovação e do uso do fio dental, ocorrendo a remoção pela atividade dos abrasivos, e o controle químico terapêutico, mantendo-se um equilíbrio ecológico da microbiota não cariogênica ou periodontopatogênica, e profilático.

A legislação que regulamenta a classificação dos produtos de higiene dental e bucal é a RDC n.º 79 de 28/08/2000 (ANVISA, 2000), classificando-os na categoria de produtos de higiene. O grau de risco atribuído a estes produtos pode ser diferenciado em 1 ou 2 dependendo da finalidade a que se destina. Produtos para fins especiais como antiplaca, anticárie, antitártaro, clareador químico e anti-séptico, obrigatoriamente se enquadram no grau de risco 2 (produto com risco potencial).

HARRY (1990) formula os requisitos básicos de um dentífrico, os quais são:

1. limpar os dentes de modo adequado, isto é, eliminar os resíduos de alimentos, placas e manchas;
2. dar uma sensação de frescor e limpeza à boca;
3. custo acessível que fomente seu uso regular e freqüente;
4. ser inócuo, agradável e fácil de usar;
5. embalagem econômica e permanecer estável durante o seu armazenamento;
6. ajustar-se a padrões aceitos em termos de abrasividade ao esmalte e dentina;
7. em usos profiláticos, estas devem estar fundamentadas em ensaios clínicos dirigidos.

2.3.1 Componentes de um dentífrico

2.3.1.1 Abrasivos

Os abrasivos são também chamados de agentes de polimento, sendo componentes fundamentais das pastas e pós-dentífricos. Sua finalidade

é a de remover da superfície dos dentes, sem danificarem o esmalte e a dentina, as manchas, placas dentárias e os resíduos alimentares.

A necessidade de utilização de um agente abrasiva é reconhecida há muito tempo, tanto pelo aspecto clínico como comercial. A remoção mecânica das manchas oriundas do depósito de substâncias corantes encontradas nos alimentos como chá, café e cigarro, são removidas de forma segura. Considerando-se anos de estudos com o objetivo de se descobrir métodos químicos para remoção de manchas e sem o aparecimento de um produto efetivo, o dentifrício com abrasivo continua sendo ainda o método mais indicado, seguro e fácil de ser usado pelo público em geral (PANZERI et al., 1979).

O abrasivo utilizado em uma pasta dentifrícia deve apresentar um equilíbrio entre a atitude de limpar a superfície e a necessidade de evitar danos aos dentes. Conforme o Conselho de Terapêuticos Dentais da Associação Odontológica Americana (*Council on Dental Therapeutics of the American Dental Association*), “um dentifrício não deve ser mais abrasivo que o necessário para manter os dentes limpos, isto é, livres da placa acessível, detritos e manchas superficiais. O grau de abrasividade necessário para conseguir esta finalidade pode variar de um indivíduo para outro.” As ações abrasiva e limpadora dos abrasivos estão regidas por tamanho, forma, fragilidade e dureza (HARRY, 1990).

Os abrasivos nos dentifrícios têm sido desde há muito tempo tema de estudo, principalmente dos fatores físico-químicos que determinam as propriedades destas partículas e a medida do grau de abrasividade dos mesmos.

Existem cinco aspectos da formulação que devem ser considerados para o uso dos abrasivos:

- necessidade da presença dos agentes abrasivos nos dentifrícios;
- efeitos biológicos adversos de uma ação abrasiva excessiva;
- nível ideal de abrasividade;

- a influência da interação dentifrício – escova de dente na abrasividade.

Os abrasivos mais comumente empregados são o carbonato de cálcio, fosfato dicálcico dihidratado, fosfato tricálcico, pirofosfato de cálcio, metafosfato de sódio insolúvel, aluminas, sílicas e silicatos.

O carbonato de cálcio precipitado foi um dos compostos mais utilizados como abrasivo. Há diversos tipos diferenciados pela forma cristalina, tamanho de partícula e pela densidade. Quanto à forma cristalina, há muita variação neste composto, ocasionando falta de uniformidade na forma dos cristais e a presença de uma elevada percentagem de cristais de quartzo, fato que o torna contra-indicado como abrasivo por ser demasiado agressivo para o esmalte dentário. Devido a estes fatores, o seu uso está vinculado à necessidade de realização de ensaios para controle do grau de abrasividade (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

Todos os tipos de carbonato de cálcio tornam os dentifrícios alcalinos, e pode ser necessário proteger a embalagem de alumínio da corrosão, adicionando-se silicato de sódio (HARRY, 1990).

Devido a estes fatores, o carbonato de cálcio foi sendo substituído por outros compostos abrasivos que apresentam maior segurança e facilidade de emprego. Entre eles, encontram-se compostos à base de fosfatos de cálcio, como o fosfato dicálcico di-hidratado, o fosfato dicálcico anidro, o fosfato tricálcico e o pirofosfato de cálcio.

O fosfato dicálcico di-hidratado confere ao dentifrício um pH entre 6 a 8, e um paladar mais agradável que os produtos elaborados com o carbonato de cálcio, e freqüentemente, vem associado ao fosfato dicálcico anidro com o objetivo de diminuir a agressividade abrasiva deste último composto.

O fosfato dicálcico anidro é cinco vezes mais abrasivo do que o seu similar di-hidratado sendo muito utilizado quando se deseja uma ação de polimento mais intensa (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

O fosfato tricálcico apresenta-se sob a forma de pó branco, inodoro, insípido e praticamente insolúvel, e muitas vezes é associado com o fosfato dicálcico di-hidratado, pois confere à formulação um pH alcalino.

O pirofosfato de cálcio é três vezes mais abrasivo do que o fosfato dicálcico di-hidratado, sendo o de eleição para produtos que contém fluoreto de sódio ou estanho por não reagirem com estes compostos. A baixa disponibilidade de íons cálcio solúveis contribui para a estabilidade dos fluoretos. Os demais compostos abrasivos de cálcio são incompatíveis com os fluoretados. Atualmente, as pastas dentífricas que apresentam derivados de flúor, utilizam abrasivos alternativos como o metafosfato de sódio, o carbonato de magnésio, o óxido de alumínio e os derivados do ácido silícico.

O metafosfato de sódio insolúvel deixou de ser utilizado pois, apesar de ser compatível com os compostos fluoretados, é um quelante dos sais de cálcio intervindo na estrutura dentária.

O carbonato de magnésio é um abrasivo muito suave, que apesar de se apresentar sob a forma de pó branco, confere aspecto acinzentado à formulação final.

As sílicas abrasivas são química e fisiologicamente inertes, inodoras e insípidas. Constitui-se de partículas muito pequenas com grande poder de adsorção, possibilitando a formulação de produtos com excelente aspecto e baixa densidade. Dois tipos básicos de sílica são usados nos dentífricos: a sílica abrasiva e a sílica espessante, quimicamente idênticas, mas que se diferenciam quanto às características físicas e por serem obtidas por processos distintos. Ensaio mostram que a associação de sílicas abrasivas e espessantes pode promover um efeito sinérgico da propriedade abrasiva (PEDRAZZI; LARA; PANZERI, 1999).

2.3.1.2 Umectantes

Segundo PRISTA; BAHIA; VILAR (1995), os umectantes têm como função principal impedir ou retardar a evaporação dos constituintes líquidos da preparação. Quando um dentífrico perde água por evaporação, sofre alteração

na viscosidade registrando aumento da consistência, com alteração da estabilidade físico-química do produto final. Os umectantes também conferem brilho às pastas dentífricas e influenciam a sua edulcoração.

As propriedades desejáveis de um umectante são:

- manter a umidade do produto e prevenir o ressecamento quando da exposição prolongada ao ar;
- conferir dulçor e outros benefícios organolépticos.

Os mais empregados são a glicerina e o sorbitol que apresentam estas propriedades. Além destes, utilizam-se ainda o propilenoglicol e o polietilenoglicol. O sorbitol é normalmente utilizado em solução aquosa na concentração de 70 a 75 %. Em igualdade de circunstâncias, a glicerina confere ao produto acabado uma consistência ligeiramente superior à do sorbitol. O propilenoglicol tem sabor ligeiramente adstringente, enquanto a glicerina e o sorbitol apresentam sabor adocicado, fato que auxilia a função de edulcorantes e aromatizantes (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

Os umectantes utilizados em dentífricos são selecionados baseados em sua cariogenicidade, isto é, a possibilidade de ser fermentável por microrganismos da cavidade bucal, em particular os que compõem a placa bacteriana dental (BURNET; SCHERP; SCHUSTER, 1991).

Nos dentífricos na forma de gel transparente, o sistema umectante tem uma grande importância, pois, dependendo da escolha das substâncias e de suas concentrações na formulação, torna-se possível obter a transparência do produto. Neste tipo de dentífrico, a quantidade de água geralmente é mínima, (máximo de 10 %) e as quantidades de umectantes são elevadas, em torno de 50 a 70 % (NUNES, 1996).

2.3.1.3 Solventes

Segundo PRISTA, BAHIA e VILAR (1995), os solventes utilizados nos dentífricos são a água e o álcool. A água está presente em percentagens variadas (20 a 40 %) na preparação das mucilagens das pastas dentífricas e

dentifrícios líquidos. O álcool, cuja graduação pode variar entre 70 a 95 % é o solvente básico dos elixires dentifrícios, podendo ser encontrado em percentagens que variam de 90 a 95 %. É utilizado também como diluente de essências nas formulações de pastas dentifrícias.

2.3.1.4 Espessantes

Os espessantes são produtos semi-sólidos, transparentes, de consistência gelatinosa e de fácil aplicação, compostos de partículas coloidais que não se sedimentam, isto é, ficam dispersas. Possuem dimensões que variam de 0,001 a 0,01 μm , contendo alta proporção de solvente em relação ao agente espessante. Em geral são polímeros que, quando dispersos em meio aquoso, assumem conformação capaz de aumentar a viscosidade da formulação e organizam-se de tal modo a formar uma estrutura em rede coloidal tridimensional, que limita o escoamento do fluido pelo enredamento e imobilização do solvente, sendo responsável também pela resistência do gel à deformação (PADER, 1993).

As finalidades dos espessantes são muitas e entre elas pode-se destacar:

- facilitar a dispersibilidade dos pós abrasivos no seio das pastas dentifrícias;
- alterar a capacidade de espuma dos compostos com ação detergente;
- interferir na aromatização do produto acabado, com a liberação de sabor;
- manter a integridade física do produto durante todo o prazo de validade em diversas condições de estocagem e distribuição.

Os espessantes podem ser compostos naturais, tais como o amido, a goma adraganta, o alginato de sódio, o carragenato de sódio, a pectina e diversos silicatos coloidais, ou compostos de origem sintética, como a polivinilpirrolidona, os derivados da celulose e os ácidos carboxivinílicos.

O amido, assim como as gomas adraganta, arábica e caraia, deixaram de ser utilizados por não conferirem aos produtos características de viscosidade e tixotropia adequadas, características organolépticas desejadas e por apresentarem ligeiras variações na sua composição química. Além disso, as mucilagens presentes nestes compostos são facilmente contaminadas por microorganismos, sendo necessário incorporar substâncias com ação bactericida e antifúngica (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

O alginato de sódio é utilizado entre 2,5 % a 3 %, sendo que o mesmo reage com sais solúveis de cálcio, revestindo-os com uma película, causando uma melhoria da qualidade do dentífrico, porque diminuem os riscos de abrasão dos pós sem afetar a capacidade de limpeza da preparação. Por isto é o espessante recomendado para dentífricos destinados a gengivas sensíveis e a dentes cuja superfície do esmalte se encontra alterada (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

Associados aos espessantes primários empregam-se comumente espessantes complementares, com o objetivo de garantirem a estabilidade física do produto acabado. Em geral, evitam alterações da consistência dos dentífricos, provenientes de variação de temperatura durante o transporte e o armazenamento destes produtos. Entre os espessantes complementares tem-se a pectina, o dióxido de silício coloidal (Aerosil 200 V®, um pó micronizado constituído por 99,8 % de óxido de silício, empregado a 3,5 %) e diversos silicatos coloidais, tais como a Bentonite® (silicato de alumínio hidratado coloidal, que em presença de água, origina géis estáveis em pH superior a 7,0) e o Veegum® (silicato de alumínio e magnésio hidratado).

A pectina é particularmente indicada para formular produtos dentífricos com carácter ácido, sendo que os géis preparados exclusivamente com pectina são compatíveis com tensoativos neutros e com compostos abrasivos tais como o talco, o óxido de titânio e a sílica amorfa.

A polivinilpirrolidona origina produtos finais muito homogêneos e resistentes à desidratação. Possui capacidade de remover a nicotina depositada no esmalte dentário, sendo recomendada para formular dentífricos destinados a fumantes.

Os compostos derivados da celulose são os espessantes mais utilizados na preparação de dentifrícios, dando origem a géis homogêneos, inodoros, insípidos e com alto grau de tixotropia. Após a obtenção sintética conseguiu-se aprimorar vários tipos com diferentes graus de dispersibilidade, sem coloração, não tóxicos e relativamente sem sabor.

A carboximetilcelulose sódica, utilizada sob a forma de gel ou mucilagem de 1 a 2,5 %, possui caráter aniônico, apresentando boa viscosidade em pH entre 5,5 a 9,0. É razoavelmente estável na presença de eletrólitos e íons cálcio e indicados para formular pastas que incorporam fluoretos, cujo pH final é cerca de 5,0. Devido à característica aniônica, não pode ser utilizada em dentifrícios contendo agentes catiônicos com ação bactericida. Nestes casos, deve ser usado um derivado de celulose não iônico como a metilcelulose e a hidroxietilcelulose que são éteres celulósicos compatíveis com compostos iônicos, independente do pH do meio.

Atualmente, usam-se com freqüência os polímeros do ácido acrílico que além de possuírem propriedades suspensoras, apresentam inércia química e conferem boa estabilidade face às variações de temperatura durante a armazenagem.

O sistema espessante deve ser cuidadosamente selecionado para conferir propriedades reológicas adequadas, uma fácil dispersibilidade durante a escovação, assim como a liberação do sabor e a manutenção de um nível adequado de espuma. No entanto, estas propriedades são secundárias quando se têm em vista o papel deste sistema de manter a integridade do produto durante o prazo de validade, em diversas condições de estocagem e distribuição.

Os pontos negativos que podem estar relacionados com o sistema espessante são:

- sensação de pegajosidade;
- não uniformidade e aparência de granulado;
- dificuldade de aplicação na escova, por apresentar-se muito viscoso ou muito fluido (PADER, 1988).

O comportamento e modo de formação destes géis têm importância no envase do produto, no processo de enchimento dos tubos, na remoção do produto da embalagem em função do orifício de saída, na manutenção da forma sobre as cerdas e na biodisponibilidade dos princípios ativos (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

2.3.1.5 Tensoativos

De acordo com HARRY (1990), a limpeza dos dentes é essencialmente um processo detergente, e toda pasta dentifrícia incorpora um agente tensoativo. Os sabões de sódio e potássio foram os primeiros detergentes utilizados, porém as suas desvantagens, como o elevado pH, sabor e incompatibilidade com outros componentes têm conduzido a sua substituição por detergentes sintéticos. Estes compostos também não estão totalmente isentos dos mesmos inconvenientes, mas como são utilizados em quantidades relativamente baixas, são menos agressivos para a mucosa oral, apresentam menores incompatibilidades com os componentes das formulações, e são mais eficazes na ação de limpeza.

Um bom tensoativo deve ser insípido, atóxico e não irritante da mucosa bucal. A finalidade é a de emulsificação dos resíduos, auxiliando na remoção dos depósitos presentes na superfície dos dentes, além de atender um requisito indispensável segundo as exigências do consumidor, que é a capacidade de produzir espuma, causando um impacto direto na sensação subjetiva de limpeza.

Alguns dos agentes tensoativos podem ter propriedades profiláticas ou terapêuticas intrínsecas, mas o que define a escolha é a capacidade de detergência e poder espumante. São encontrados na concentração de 0,5 a 2,0 % dependendo da intensidade de espuma que se pretende. Estes valores não devem ser ultrapassados, porque os detergentes sintéticos podem estar relacionados com a origem e desenvolvimento de parodontoses (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

Os tensoativos sintéticos, que normalmente são utilizados na composição de dentifrícios são: o laurilsulfato de sódio, o laurilsulfato de magnésio e o laurilsarcosinato de sódio.

Têm-se proposto ainda outros agentes tensoativos como: o ricinoleato de sódio, sulforricinoleato de sódio, lauril éter sulfato de sódio, monoglicerídeo de côco, alquil sulfonato e alquil poliéter carboxilato.

Segundo HARRY (1990), o laurilsulfato de sódio é provavelmente o tensoativo mais utilizado em todos os dentifrícios, e satisfaz a maioria dos requisitos. A denominação "lauril" provém do radical alquil R derivado de um álcool C_{12} em $ROSO_3Na$. Sua fonte natural é os ácidos graxos de óleo de côco. O sabor pode se apresentar desagradável, sendo influenciado pelo teor de álcool livre. A baixa concentração de sais inorgânicos também é desejável.

O laurilsulfato de sódio é um forte tensoativo aniônico com uma cauda hidrofóbica orgânica a qual tem grande afinidade com proteínas. Alguns autores sugerem que este tensoativo poderia ser o agente causador das diferentes reações na mucosa oral, como por exemplo, esfoliação, ulceração e inflamação do epitélio oral, aumento da permeabilidade para não-eletrólitos, dilatação do extrato córneo devido à separação e à perda das camadas do epitélio superficial, desnaturação de proteína e expansão de membrana. A relação clínica de dentifrícios com laurilsulfato de sódio e doenças da mucosa oral ainda não está bem comprovada (NUNES, 1996).

O laurilsulfato de magnésio tem a vantagem de ser ligeiramente menos agressivo do que o laurilsulfato de sódio e, por este fato, é um composto normalmente indicado para formular pastas dentifrícias destinadas a gengivas sensíveis. Apresenta-se sob a forma de um pó branco com características físicas semelhantes às do laurilsulfato de sódio, mas com odor e sabor ligeiramente mais tênue (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

O laurilsarcosinato de sódio é bastante utilizado porque se atribuem propriedades anti-sépticas, com efeitos profiláticos como consequência de suas propriedades antienzimáticas. Mas, a importância maior como tensoativo resulta do fato de originar produtos com elevada capacidade de formação de

espuma, grande solubilidade e não interferir na estabilidade dos demais componentes da formulação.

Além destes tensoativos sintéticos mencionados, utilizam-se ainda compostos derivados de alquilésteres sulfonados, detergentes sintéticos, com boa capacidade de formar espuma, mas o seu emprego apresenta limitação porque são estáveis em meio neutro, mas em meio alcalino perdem a atividade detergente. Como exemplo tem-se o laurilsulfoacetato de sódio, comercialmente denominado de *Lathanol*®.

Têm-se ainda os tensoativos anfotéricos ou anfotéricos que possuem, simultaneamente, propriedades ácidas e alcalinas, ou seja, a capacidade de ceder ou captar prótons na mesma molécula. Em soluções ácidas, formam compostos catiônicos e em soluções alcalinas formam compostos aniônicos; na faixa isoelétrica ou intermediária, constituem-se como íons híbridos (REBELLO, 2001).

2.3.1.6 Aromatizantes

O sabor de uma pasta dentifrícia é uma das características determinantes da aceitação pelo consumidor. Após a aplicação do dentifrício, as sensações de aroma e sabor devem manter-se durante algum tempo na cavidade oral; a sensação de frescor deve dar a consciência duradoura de que se fez a higiene oral.

Dois aspectos sobre aromas de dentifrícios devem ser levados em consideração:

- auxiliar na escolha do produto pela satisfação de usufruir o sabor;
- mascarar sabores desagradáveis das bases.

Os aromas normalmente utilizados são os seguintes:

1. Aromas cítricos: essências de laranja, limão, tangerina e bergamota;
2. Aromas balsâmicos: mentol, cânfora, borneol, eucaliptol, timol e essências de hortelã-pimenta e de pinheiro;

3. Aromas de frutas: essências de groselha, framboesa, abacaxi e banana.

As composições aromáticas são utilizadas em concentrações que variam entre 1 a 3 % nas formulações de pós e das pastas dentífricas, e 8 a 15 % nas formulações dos dentífricos líquidos (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

A preferência pelos aromas em dentífricos, como nos alimentos, é determinada por fatores culturais. A preferência nos países com climas semelhantes ao do Brasil é de aromas refrescantes como menta, eucalipto e frutas cítricas (NUNES, 1996).

2.3.1.7 Edulcorantes

Segundo PRISTA, BAHIA e VILAR (1995), o objetivo da incorporação de edulcorantes é o de eliminar o sabor insípido provocado pelos abrasivos, corrigir o sabor amargo e irritante que geralmente é transmitido pelos detergentes, e disfarçar o sabor dos princípios ativos.

As formulações com elevadas concentrações de glicerina ou sorbitol podem eventualmente dispensar edulcorantes por conferirem sabor doce ao produto acabado.

Os edulcorantes devem ser eleitos de acordo com a legislação em vigor em cada país. No Brasil são regulamentados pela Portaria n.º 35 de 11/10/90 (ANVISA, 1990) e são:

- Ácido cicloexilsulfâmico e sais de glicerina: glicirrizinato de amônio, mono e dissacarídeos;
- Sacarina e sais, sorbitol, manitol e xilitol;
- Esteviosídeos: uso de extrato purificado de folhas de *Stevia rebaudiana* (com no mínimo 60 % de esteviosídeos) e do esteviosídeo puro (isento de seus produtos de hidrólise - steviol e isosteviol) em produtos de higiene oral.

As percentagens de edulcorantes empregadas não devem ser elevadas, pois em excesso podem acarretar efeitos contrários aos desejados. Em regra usam-se percentagens de 0,05 a 0,3 % (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

Na seleção dos agentes edulcorantes, deve-se considerar a escolha de produtos com baixo potencial cariogênico, devido aos reconhecidos efeitos deletérios dos hidratos de carbono (BURNETT; SCHERP; SCHUSTER, 1991).

2.3.1.8 Conservantes

A elevada quantidade de água nas formulações de pastas dentífricas líquidas acarreta freqüentemente invasão por microrganismos, sendo necessário o uso de conservantes com atividades bactericidas e fungicidas. Entre estes, os mais utilizados são: os ésteres do ácido p-hidroxibenzóico (máximo 0,4 %, expresso como ácido), ácido sórbico (máximo 0,6 %, expresso como ácido), formaldeído (máximo 0,1 %) de acordo com os limites determinados na RDC n.º 162 de 11/09/2001 (ANVISA, 2001).

As pastas que contém elevado conteúdo de glicerina, sorbitol e de umectantes, geralmente não necessitam a incorporação de bactericidas e fungicidas (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

2.3.1.9 Corantes

Os corantes utilizados são os autorizados pela RDC n.º 79 de 28/08/2000 (ANVISA, 2000), que regulamenta a utilização destes para produtos de higiene oral, como os enxaguatórios bucais e os géis dentais. Os mais usuais são o azul FD&C 1, verde FD&C 3, vermelho FD 3 (eritrosina), amarelo FD&C 37 (tartrazina), amarelo FD&C 20, vermelho FD&C 33 e FD&C 37 e o dióxido de titânio (MEDEIROS; COIMBRA, 2000).

Segundo PRISTA, BAHIA e VILAR (1995) recomenda-se que as concentrações de corantes utilizados não devem ultrapassar 0,01 %, concentração necessária para que estes adjuvantes cumpram o seu objetivo.

2.3.2.0 Agentes terapêuticos

As preparações dentifrícias formuladas com os componentes anteriores desempenham basicamente funções de limpeza e de higiene oral. Se nestas preparações forem incorporados compostos com ação bactericida e compostos com elevada ação abrasiva, obtém-se dentifrícios com atividades, respectivamente, anti-cárie e anti-tártaro. No caso de se incorporarem compostos com ação anti-séptica suave ou com ação adstringente, obtém-se dentifrícios cuja especificidade é adequada para a prevenção e tratamento das doenças periodontais (PRISTA; BAHIA; VILAR, 1995).

Segundo CALFIELD e NAVIA (1984) qualquer agente químico selecionado para controle de microrganismos da cavidade oral devem possuir as seguintes propriedades:

- Segurança: qualquer agente quimioterápico para uso tópico intra-oral não deve ser absorvido pela mucosa; se deglutido acidentalmente, não deve manifestar toxicidade sistêmica; não deve induzir reações de hipersensibilidade e não provocar irritação tecidual;
- Ação rápida de modo que não ocorra a seleção de bactérias resistentes;
- Ação seletiva, não perturbando o equilíbrio natural entre a flora saprófita e o hospedeiro;
- Capaz de penetrar na placa bacteriana e conservar-se no ambiente oral por tempo prolongado;
- Estável em solução, biodegradável, ativo em amplo espectro de pH e em concentrações variadas;
- Sabor aceitável, não provocar alterações no paladar e descoloração dos dentes ou mucosas (ARANTES, 2002).

a) Íons fluoreto

Para o controle da cárie dental, centenas de estudos clínicos têm demonstrado a eficácia de dentifrícios contendo íons fluoreto nas formas de fluoreto de sódio ou monofluorofosfato de sódio, sendo que acima de 90 % dos dentifrícios vendidos apresentam estes constituintes (NUNES, 1996).

Os íons fluoreto exercem proteção em concentração de 1000 ppm em veículo compatível, ligando-se fortemente aos tecidos mineralizados, aumentando a resistência dos dentes ao ataque cariogênico, reduzindo-se assim, em 20 a 30 %, a incidência da cárie (NEWBRUN, 1990; NUNES, 1996; MEDEIROS e COIMBRA, 2000).

HARRY (1990) comenta ainda que com o uso de compostos fluorados foi possível comprovar que o flúor inibe o metabolismo enzimático das bactérias que integram a placa dentária, diminuindo desse modo a capacidade que estas têm para efetuar a decomposição dos hidratos de carbono.

A natureza do abrasivo é um dos fatores chaves para maximizar o efeito dos íons fluoreto nos dentifrícios.

O conceito atual do mecanismo cariostático da aplicação tópica de íon fluoreto estabelece uma relação direta com a formação de fluoreto de cálcio no esmalte dental. O íon fluoreto é fator determinante na des-remineralização que mantém o dente hígido. Mantido o equilíbrio, não há formação ou desenvolvimento de cárie (NUNES, 1996).

Segundo a RDC n.º 79 de 28/08/2000 (ANVISA, 2000) o limite máximo de íons fluoreto não deverá ultrapassar 0,15 % em formulações de dentifrícios, expresso em flúor. Este componente não é permitido em formulações de produtos indicados para uso infantil, com idade inferior a 6 anos. Estão disponíveis sob a forma de monofluorofosfato (de amônio, cálcio, potássio e sódio), fluoreto (de amônio, cálcio, potássio, sódio, alumínio, estanho, magnésio, hexadecilamônio e octadecenilamônio), dihidrofluoreto, hidrofluoreto e fluorsilicato (de sódio, amônio, potássio e magnésio).

b) Nitrato de potássio

Quando o desgaste da superfície dentária é significativo a ponto de ocorrer perda de cemento, as fibras nervosas da polpa localizadas nos canículos da dentina passam a ser mais sensíveis a pequenos choques traumáticos e às variações de temperatura. Nestas circunstâncias, é normal utilizarem-se preparações dentifrícias que incorporam compostos com ação dessensibilizante.

Segundo PADER (1988), vários dentifrícios atualmente são comercializados contendo agentes terapêuticos visando o alívio da sensibilidade dentária. Existem uma série de agentes terapêuticos para esta finalidade: formaldeído, fluoreto de sódio, citrato dibásico de sódio, nitrato de prata amoniacal, hidróxido de cálcio, cloreto de estrôncio e nitrato de potássio.

O Conselho de Agentes Terapêuticos Dentais da American Dental Association (ADA) reconhece os dentifrícios com 5 % de nitrato de potássio em base de carbonato de cálcio como "úteis e seguros" e sua eficácia foi comprovada por oito estudos clínicos (PADER, 1988).

c) Cloreto de cetilpiridíneo

Segundo PADER (1988), o cloreto de cetilpiridíneo faz parte do grupo de substâncias quaternários de amônio. Devido à natureza catiônica, tem um alto grau de substantividade com os substratos biológicos, conferindo atividade detergente e anti-séptica. Possui ação bacteriostática e bactericida contra diversos microrganismos gram positivos e alguns gram negativos. O mecanismo de ação está relacionado com o poder de adsorção pela parede celular e interferência no metabolismo bacteriano, causando a lise das paredes celulares das bactérias (HARRY, 1990). A atividade clínica foi estudada principalmente em enxaguatório bucal.

Esta substância é ativa provavelmente em virtude de sua carga elétrica positiva, a qual lhe confere afinidade com as células bacterianas que, por sua vez, em pH fisiológico, apresentam cargas elétricas negativas. Assim, a atividade anti-placa do cloreto de cetilpiridíneo poderia estar relacionada com

essa ligação de cargas elétricas, que alteraria a barreira osmótica da membrana celular, aumentando a permeabilidade, de tal modo que a célula mantenha a integridade ou, ainda, desnaturando as enzimas da superfície da parede celular (NUNES, 1996).

Além do cloreto de cetilpiridíneo, outros sais quaternários de amônio são utilizados em higiene bucal como, por exemplo, o cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio e a hexatidina.

3 ESTUDO DE ESTABILIDADE

De acordo com a USP (1999), a estabilidade é definida como o período de tempo no qual o produto farmacêutico mantém, dentro dos limites especificados, as características e propriedades iniciais. É classificada em cinco tipos: física, química, microbiológica, terapêutica e toxicológica. Assim, devem ser mantidas características como aparência, sabor, uniformidade, integridade do princípio ativo e seu efeito terapêutico, ausência de toxicidade e crescimento microbiano dentro dos limites de aceitação.

Segundo a Resolução – RE nº 560 de 2 de abril de 2002 (ANVISA, 2002), o teste de estabilidade tem como finalidade avaliar o comportamento dos fármacos ou medicamentos que se alteram com o tempo, por influência de fatores ambientais, como a temperatura, umidade e luz.

A ICH (*International Conference on Harmonization*) constituída por representantes de órgãos de regulamentação da União Européia, Japão, Estados Unidos e representantes da Indústria Farmacêutica, estabeleceu protocolo para testes de estabilidade, com diretrizes sobre as características essenciais de um programa de estabilidade aceitável, os quais foram publicados pelo FDA (ICH Q1A, 1993; ICH Q2A, 1995; ICH Q2B, 1996; ICH Q1A(R), 1999).

Em uma destas publicações (ICH Q1A(R), 1999), o ICH comenta que o propósito do teste de estabilidade é prover evidências de como a qualidade

de uma substância ou produto varia com o tempo, sob influência de uma variedade de fatores ambientais tais como temperatura, umidade e luz.

A USP (1995), recomenda para os estudos de estabilidade de produto acabado, o conceito de divisão do mundo em quatro zonas climáticas (Tabela 1). Os testes de estabilidade devem ser realizados conforme a zona climática da região de destino do medicamento. A zona climática I é a temperada, a II subtropical, III quente e seca e IV quente e úmida.

TABELA 1 - ZONAS CLIMÁTICAS ADOTADAS PELA USP (1995)

ZONA CLIMÁTICA	TEMPERATURA (°C)	UMIDADE RELATIVA (%)
I	21	45
II	25	60
III	30	35
IV	30	70

O Brasil está inserido na zona IV. Assim, uma temperatura de 30 °C e uma umidade relativa do ar de 70 % representam as condições predominantes de armazenamento do medicamento no país. O estudo de estabilidade de longo prazo deve ser realizado em estufas climatizadas, nestas condições, por um período suficiente para cobrir toda a vida de prateleira proposta, enquanto o estudo acelerado deve ser realizado a 40 °C \pm 2 °C e 75 % \pm 5 % UR, por um período de 6 meses, sendo que as amostras devem ser analisadas nos tempos 0, 30, 60, 90 e 180 dias, ou a 50 °C \pm 2 °C e 90 % \pm 5 % UR durante três meses, com análise em 0, 30, 60 e 90 dias (ICH Q1A(R), 1999; ANVISA, 2002-RE nº 560).

Segundo o ICH (ICH Q1A(R), 1999), o uso da umidade relativa é obrigatório e, na ausência de câmaras climáticas, aceita-se a utilização de

recipientes com solução salina em concentrações adequadas a fim de se obter a umidade relativa do ar necessária.

Os estudos de estabilidade acelerada são destinados a aumentar a velocidade de degradação química e modificação física de uma substância e/ou alterações de características de forma farmacêutica, usando condições forçadas de armazenamento, com o propósito de monitorar as reações de degradação e prever o prazo de validade nas condições normais de armazenamento (ANVISA, 2001-RDC nº 10; ANVISA, 2002-RE nº 560).

Os ensaios de estabilidade acelerada permitem estabelecer um período de vida útil provisório do produto. Os mesmos devem ser complementados com estudos de longa duração, realizados nas condições de armazenamento determinadas para o medicamento (ANVISA, 2001-RDC nº10; ANVISA, 2002-RE nº 560).

4 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

O FDA, a USP e a ICH fornecem as diretrizes para a validação de metodologias analíticas com a finalidade de estabelecer as características e as especificações de qualidade que um método deve satisfazer. A validação da metodologia analítica é uma forma de estabelecer evidência documental da segurança de que o método validado produz resultados confiáveis (CAMPOS, 2003).

Os parâmetros analíticos típicos considerados em um processo de validação são: exatidão, precisão (repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade), especificidade, linearidade e faixa de trabalho (ICH Q2B, 1996).

Devido à grande variedade de metodologias analíticas, diferentes propostas para a validação estão disponíveis. A USP (2000) estabelece quatro categorias de validação:

- Categoria I – métodos analíticos para a determinação quantitativa das matérias-primas ou dos princípios ativos nas especialidades farmacêuticas.
- Categoria II – métodos analíticos para a determinação de impurezas em matérias-primas ou produtos de degradação em especialidades farmacêuticas. Incluem-se aqui determinação quantitativa e ensaios limites.
- Categoria III – métodos analíticos para determinação de características de desempenho (por exemplo, teste de dissolução).
- Categoria IV – testes de identificação.

Para cada categoria, diferentes informações são necessárias. A Tabela 2 apresenta os parâmetros necessários para cada categoria de método analítico conforme estabelecido pela USP (2000).

4.1 ESPECIFICIDADE

A especificidade ou seletividade é definida como a habilidade da metodologia analítica em identificar o fármaco de interesse face à presença de outras substâncias comuns, tais como os subprodutos da síntese, componentes da formulação e produtos da degradação (ICH Q2B, 1999).

Segundo LEITE (2002), a espécie de interesse deve ter o sinal analítico isento de interferências que possam levar a dúvidas na identificação ou dar margem de não confiabilidade ao resultado quantitativo. A seletividade depende de quanto o método é indiferente à presença na amostra de espécies que poderiam interferir na determinação do analito.

Um teste específico é aquele que não permite duplicidades, onde um sinal medido corresponde apenas à substância a ser analisada.

A especificidade é determinada analisando-se diversas amostras da matriz ($n \geq 6$), para que se investigue a possível presença de compostos que

interfiram ou se sobreponham ao sinal do composto de interesse. Avaliações adicionais incluem análises de produtos de degradação, excipientes (fármacos) e impurezas (CASS e DEGANI, 2001).

TABELA 2 - ELEMENTOS NECESSÁRIOS PARA A VALIDAÇÃO

PARÂMETROS ANALÍTICOS	CATEGORIA I	CATEGORIA II		CATEGORIA III	CATEGORIA IV
		QUANTITATIVOS	ENSAIOS LIMITES		
Precisão	Sim	Sim	Não	Sim	Não
Exatidão	Sim	Sim	*	*	Não
Linearidade	Sim	Sim	Não	*	Não
Especificidade	Sim	Sim	Sim	*	Sim
Limite de detecção	Não	Não	Sim	*	Não
Limite de quantificação	Não	Sim	Não	*	Não
Faixa de trabalho	Sim	Sim	*	*	Não

* Pode ser necessário conforme a natureza do teste. Fonte: USP (2000).

4.2 EXATIDÃO

O parâmetro exatidão foi definido pela USP (2000) como o grau de concordância entre os resultados encontrados e o valor verdadeiro. A exatidão de um método deve ser calculada dentro de sua faixa de trabalho, sendo calculada como porcentagem de recuperação da quantidade incorporada de

um analito ou pela diferença entre o valor médio dos ensaios e o valor verdadeiro sendo levado em consideração os intervalos de confiança.

LEITE (2002) comenta que a exatidão traduz a concordância dos valores experimentais com o valor verdadeiro.

Segundo CASS e DEGANI (2001), a exatidão pode ser determinada de várias formas:

- Análise de uma amostra certificada e sua comparação com o valor medido.
- Comparação com resultados obtidos por intermédio da utilização de um método já existente e de exatidão conhecida.
- Baseado-se na preparação de uma solução de concentração conhecida, por intermédio da adição de uma determinada quantidade da amostra à matriz.

A ICH Q2B (1999) recomenda a realização de no mínimo nove determinações analíticas dentro de no mínimo três níveis de concentrações que cubram a faixa de trabalho especificada, ou seja, para três níveis de concentração devem ser realizadas três réplicas de análises.

4.3 PRECISÃO

A USP (2000) descreve esse parâmetro de validação como sendo o grau de concordância entre os resultados de análises individuais quando o procedimento é aplicado repetidamente para múltiplas análises de uma mesma amostra homogênea.

LEITE (2002) define precisão como sendo a concordância entre os vários valores experimentais obtidos, quanto mais próximos entre si estiverem, ou seja, maior será a precisão quanto menor for a amplitude das medidas.

Segundo CASS e DEGANI (2001), a avaliação da precisão é subdividida em três etapas, que são diferenciadas pelo intervalo de tempo em

que são feitas as análises e pelas condições de realização destas, embora esta classificação não seja universal.

- a) Repetibilidade: mede o grau de variação de uma série de replicatas de injeção em um curto intervalo de tempo, ou seja, em uma mesma seqüência, nas condições originais do método. É a máxima diferença aceitável entre duas repetições, vale dizer dois resultados independentes, do mesmo ensaio e no mesmo laboratório, sob as mesmas condições (LEITE, 2002). Ex.: múltiplas medidas de uma mesma amostra por um mesmo analista.
- b) Precisão intermediária: expressa o efeito das variações dentro de um mesmo laboratório devido a análises em diferentes dias não consecutivos e por diferentes analistas (CASS e DEGANI, 2001).
- c) Reprodutibilidade: mede a precisão do método quando executado em diferentes laboratórios. É a máxima diferença aceitável entre dois resultados individuais, um em cada um dos dois laboratórios, para um mesmo processo e com demais condições como especificado (ligado a ensaios interlaboratoriais) (LEITE, 2002).

A precisão de um método analítico é usualmente expressa por intermédio do desvio padrão, variância ou coeficiente de variação das medidas obtidas.

Quando métodos de doseamento são executados utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), são aceitos valores de desvio padrão relativo de 1 a 2 %, pois as substâncias de interesse estão em quantidades suficientes para restringir o desvio a essa faixa. Por outro lado, ao se quantificar as impurezas, aceita-se uma faixa de valores de desvio padrão relativo um pouco maior, de 5 a 10 %, pois essas substâncias estão presentes em níveis mais baixos (CAMPOS, 2003).

4.4 LINEARIDADE E FAIXA DE TRABALHO

Segundo LEITE (2002) a busca da linearidade está em obter os resultados em proporção direta às concentrações das substâncias em estudo. Para o estudo da linearidade, faz-se necessária a confecção de uma curva de resposta, sendo o eixo x o da concentração e o eixo y da resposta obtida.

Segundo a USP (2000) um método é linear quando os seus resultados são diretamente proporcionais ou, através de uma transformação matemática, tornam-se proporcionais à concentração do analito dada uma faixa de trabalho.

Para a ICH Q2B (1996), uma relação linear dos resultados pode ser obtida diretamente a partir da substância ativa (através da diluição de uma solução estoque) e/ou através de diferentes avaliações e concentrações de misturas dos componentes da formulação.

Segundo CASS e DEGANI (2001), a linearidade é avaliada por intermédio de medidas da amostra em diversas concentrações, ou seja, da construção de curvas de calibração. Sua determinação é normalmente realizada por intermédio da análise de amostras extraídas da matriz apropriada em, no mínimo, cinco concentrações diferentes. Recomenda-se a análise das amostras em replicata ($n > 2$).

Inicialmente, pode-se determinar a linearidade através de uma análise visual do gráfico das respostas obtidas como função da concentração do analito. Quando os resultados podem ser descritos através de uma equação do primeiro grau, diz-se que o método é adequado, sendo então obtidos os coeficientes linear, angular e de correlação que referem respectivamente a mínima concentração detectada, inclinação da reta e ao grau de ajuste dos dados experimentais ao modelo proposto. Consideram-se aceitáveis valores de coeficiente de correlação superiores a 0,998 para análises do parâmetro linearidade (CAMPOS, 2003).

A faixa de trabalho é o intervalo entre a maior e a menor concentração do analito que demonstram ser determinados com adequados níveis de precisão, exatidão e linearidade. Esse parâmetro pode ser determinado verificando se o método origina precisão, exatidão e linearidade

quando aplicado a amostras do analito nos extremos e dentro da faixa (USP, 2000).

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma formulação dentifrícia que atue como veículo para a clorexidina, com a finalidade de prevenção da formação e remoção da placa bacteriana, do tratamento da gengivite em pacientes portadores de necessidades especiais.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e validar uma metodologia de doseamento da clorexidina na pasta dentifrícia.
- Desenvolver um dentifrício que sirva de veículo para o digluconato de clorexidina.
- Realizar os testes de verificação das características organolépticas, pH, densidade, consistência, reologia, doseamento e atividade antimicrobiana *in vitro* em bactérias e fungos nos dentifrícios desenvolvidos.
- Realizar estudos preliminares de estabilidade do produto acabado.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1. MATERIAIS

6.1.1 Substância química de referência

- Substância de referência do Digluconato de Clorexidina Sigma – Aldrich lote 052K1277.

6.1.2 Cepas padrões de microorganismos

- *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1222 B
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- *Streptococcus mutans* ATCC 25175
- *Candida albicans* ATCC 10231

6.1.3 Reagentes e materiais de laboratório

- Acetonitrila grau HPLC
- Trietilamina grau HPLC
- Fosfato de sódio monobásico P.A. anidro
- Ácido fosfórico 85% P. A.
- Água grau HPLC obtida através do aparelho Puritech, Permutation
- Unidades filtrantes com membrana de celulose de alta resistência química (Millipore) de 0,22 μ m
- Sistema de filtração contendo filtros (Millipore) de 0,45 μ m de porosidade
- Placas de aço inoxidável com 8,5cm de diâmetro e seis furos com 6mm de diâmetro e 2mm de profundidade
- Jarra de anaerobiose
- Vidrarias diversas e demais acessórios

6.1.4 Matérias-primas e material de embalagem

Todos os insumos utilizados no desenvolvimento das formulações eram grau farmacêutico e foram adquiridos de empresas especializadas no ramo.

- Digluconato de clorexidina a 20 %
- Hidroxietilcelulose
- Metilparabeno
- Sorbitol a 20 %
- Carbonato de cálcio leve
- Sacarina
- Essência de morango
- Essência de hortelã
- Ágar Mueller Hinton
- Ágar de soja Trypticase
- Sachet de microaerofilia Anaerocult C Merck
- Bisnagas de alumínio
- Bisnagas de polipropileno

6.1.5 Equipamentos

- Balança digital de prato externo Marte
- Agitador mecânico Fisatom (713 A)
- Banho–Maria Nova Técnica (NT 265)
- Potenciômetro digital Gehaka (PG2000)
- Picnômetro de alumínio Universal, de capacidade de 25 ml
- Viscosímetro rotacional Brookfield RV (*DV II +*), Spindle S70, acoplado ao *Spiral adapter* Brookfield
- Estufa Nova Ética (480)
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência Varian (PRO-STAR 210 / 215-detector UV–VIS)
- Coluna cromatográfica Microsorb-MV 100 C-18 250 mm x 4,6 mm, com diâmetro exterior de ¼ polegada, de aço inoxidável Chrompack HPLC Column

- Banho ultrasson com aquecimento Elma (Transsonic 460/H)
- Balança analítica com precisão de 0,1 mg Mettler Toledo (AG245)
- Potenciômetro HANNA (HI8519N)
- Aparelho de purificação de água Puritech Permution
- Estufa de cultura Fanem (002CB)
- Estufa incubadora para BOD Tecnal (TE-391)
- Câmara de Fluxo Laminar Vertical Engelab
- Autoclave vertical Phoenix
- Aparelho para fechar bisnagas de alumínio Stellko (04.88)

6.2 MÉTODOS

6.2.1 Preparo do dentifrício

TABELA 3 – FORMULAÇÃO DOS DENTIFRÍCIOS

Fase	Composição	Fórmula
1	Metilparabeno	2,0 g
2	Carbonato de cálcio	10,0 g
3	Hidroxietilcelulose	0,2 g
3	Sorbitol a 70%	20,0 g
4	Sacarina	0,5 g
4	Essência Morango (pediátrica) / Hortelã (adulto)	0,08 g
4	Digluconato de clorexidina 20 %	3,0 ml
1	Água destilada q.s.p	100,0 g

Os dentifrícios foram preparados utilizando o seguinte procedimento técnico:

- Pesou-se a fase 1, misturou-se e aqueceu-se até dissolução total em banho-maria a 80 °C.
- Incorporou-se a fase 2 na fase 1.
- Misturou-se a fase 3.

- Adicionou-se a fase 3 na fase 2 e agitou-se até formar gel.
- Acrescentou-se a fase 4.
- Homogeneizou-se e foram posteriormente envasados em duas embalagens, uma de alumínio (AL) e outra de polietileno (PL).

Foram manipuladas duas apresentações da pasta dentifrícia, uma contendo essência de morango, indicada para uso infantil, e outra com essência de hortelã, indicada para uso adulto.

6.2.2 Controle de qualidade da matéria-prima clorexidina

A matéria-prima digluconato de clorexidina (solução a 20 %) foi submetida ao ensaio de identificação, pH e doseamento. A identificação e o pH foram realizados segundo a monografia farmacopeica (USP, 2002) e o doseamento foi realizado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

6.2.3 Parâmetros de qualidade do produto acabado

O dentifrício após manipulado foi avaliado quanto aos seguintes parâmetros físicos e químicos:

- 6.2.3.1 Avaliação das características organolépticas: aspecto, cor, sabor e odor.
- 6.2.3.2 Determinação do pH: preparo de uma amostra de 5 g por suspensão do produto em 15 ml de água destilada, conforme norma da ABO (1999).
- 6.2.3.3 Determinação da densidade: usando-se picnômetro de alumínio e como referência a água destilada, segundo a Farmacopéia Brasileira IV (1988).
- 6.2.3.4 Avaliação da consistência: baseou-se no escoamento da amostra sob uma carga constante (280 g) e um tempo determinado (1 minuto), segundo norma da ABO (1999).
- 6.2.3.5 Avaliação das características reológicas (segundo norma da ABO – 1999): neste ensaio as amostras foram submetidas aos seguintes gradientes de cisalhamento (cm.s^{-1}) – 27,1; 40,6; 54,2; 67,7, à

temperatura entre 20 a 25 °C, com intervalo de 3 minutos entre cada cisalhamento.

- 6.2.3.6 Avaliação do teor do princípio ativo (clorexidina), através do desenvolvimento de metodologia por CLAE.
- 6.2.3.7 Avaliação da atividade antimicrobiana: a atividade antimicrobiana foi avaliada frente às cepas mais comuns na cavidade oral: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus mutans* conforme o preconizado pela Norma ABO n.º 1 Dentifrício (1999), empregando-se a metodologia para avaliação da atividade inibitória de preparações nas formas líquidas, cremosas e sólidas segundo procedimento da FIOCRUZ / INCQS (1992), onde a atividade antimicrobiana é avaliada pela presença do halo de inibição do crescimento do microrganismo. Esse método é uma variação do método da placa de ágar com orifício, em que 0,25 g da pasta dentifrícia é colocado em contato direto com o meio de cultura Mueller-Hinton empregando-se um “template” (Figura 2), dispositivo que possui seis orifícios com 6 mm de diâmetro cada onde são colocadas as amostras (POZZOBON, BANDEIRA e PIZZOLITTO, 2000).

FIGURA 2 – SISTEMA PREPARADO COM O USO DO “TEMPLATE” PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA PELO MÉTODO DE DIFUSÃO EM AGAR



6.2.4 Estudos preliminares da estabilidade do produto acabado

Na verificação da vida útil, foram avaliadas as possíveis alterações organolépticas, de consistência, pH, densidade, reologia, teor da clorexidina e da atividade antimicrobiana *in vitro* que podem ocorrer ao se submeter o produto em condições aceleradas, ou seja, por exposição do mesmo a uma temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa do ar de $75\% \pm 5\%$ em câmara climatizada.

Para este estudo foi preparado um lote piloto do dentifrício cuja formulação foi considerada a mais adequada, e o produto foi acondicionado em embalagens de 60 g do material alumínio e plástico e selado.

Em cada um dos diferentes tempos (T0, T1, T2, T3) foram avaliadas as características organolépticas, pH, densidade, consistência, características reológicas, atividade antimicrobiana e doseamento do fármaco, tomando-se como referência os valores obtidos no tempo zero.

6.2.5 Desenvolvimento e validação do método de doseamento da clorexidina por CLAE

6.2.5.1 Desenvolvimento do método

Soluções para a fase móvel

Solução ácido fosfórico 2,0 M:

Transferiram-se 14 ml de ácido fosfórico PA (85 %) para um balão volumétrico de 100 ml contendo 30 ml de água grau HPLC, e o volume foi completado e homogeneizado.

Solução de fosfato de trietilamina:

Em um balão volumétrico de 250 ml, dissolveu-se 3,45 g de fosfato monobásico de sódio PA, 1,25 ml de trietilamina, em aproximadamente 200 ml de água grau HPLC. Acidificou-se até pH 2,5 aproximadamente. O volume foi completado para 250 ml com água grau HPLC.

Fase móvel:

Composição: 380 ml de acetonitrila

250 ml de fosfato de trietilamina

345 ml de água

Filtrou-se o fosfato de trietilamina e a água através do dispositivo de filtração com uma porosidade de 0,45 μm , misturando-se ambos. Mediu-se 380 ml de acetonitrila grau HPLC e foi misturado com o filtrado (água + fosfato de trietilamina). Mediu-se o pH final da mistura, que deve estar entre $3,0 \pm 0,2$, quando necessário foi ajustado. A mistura foi degaseificada em banho de ultrassom por 20 minutos antes do uso.

Condições cromatográficas

- Coluna cromatográfica Microsorb-MV 100 C-18 25 cm x 4,6 mm, com diâmetro exterior $\frac{1}{4}$ polegada, de aço inoxidável
- Eluição: isocrática
- Fase móvel: solução de acetonitrila – fosfato de trietilamina – água [39:26:35 (v/v), pH = 3,0]
- Fluxo de corrida de 0,5 ml/min
- Injetor: manual
- Tempo de corrida de 20 minutos
- Detector UV a 239 nm
- Volume de injeção: 20 μl

Curva de calibração:

A curva de calibração foi construída com a solução padrão diluída na fase móvel acetonitrila – fosfato de trietilamina – água [39:26:35 (v/v), pH=3,0] nas concentrações de 40, 50, 100, 140 e 200 $\mu\text{g/ml}$ as quais foram analisadas por CLAE em triplicata, conforme as condições cromatográficas descritas acima. O sinal de absorvância de cada pico foi plotado com as respectivas concentrações, determinou-se a equação da reta por regressão linear e o coeficiente de correlação (r).

Preparo da amostra

Pesou-se analiticamente 0,5833 g da pasta dentifrícia em um balão de 50 ml. Anotou-se a massa pesada. Adicionou-se em torno de 40 ml da fase

móvel. Esta solução foi sonicada por 15 minutos a temperatura entre 50 °C a 60 °C até completa dissolução. Resfriou-se e acrescentou-se a fase móvel até um volume de 50 ml. As soluções contendo as amostras foram filtradas através de unidades filtrantes e o conteúdo de clorexidina da amostra foi determinado por CLAE.

6.2.5.2 Validação

Especificidade

A especificidade do método foi avaliada através da injeção de amostras preparadas conforme o descrito no item 6.2.5.1, procurando-se obter uma separação efetiva dos sinais analíticos dos componentes da formulação dentifrícia, com a identificação da clorexidina.

Linearidade

A linearidade foi avaliada através da curva de calibração a qual foi construída a partir de solução de cinco diferentes concentrações (40, 50, 100, 140 e 200 µg/ml), com análises em triplicata, plotando-se os valores das médias das áreas (n=3) em função da quantidade do padrão e determinando-se a equação da reta e o coeficiente de correlação.

Exatidão

A exatidão do método foi determinada pela avaliação da taxa de recuperação da quantidade conhecida de padrão de clorexidina (50, 70 e 100 µg %) adicionada à pasta dentifrícia (placebo). As amostras foram preparadas conforme o descrito no item 6.2.5.1 e submetidas à análise por HPLC em triplicata.

Precisão

A precisão do método foi avaliada através do ensaio de repetibilidade e precisão intermediária. No ensaio de repetibilidade, três amostras de pasta

dentifrícia contendo uma concentração conhecida da solução padrão de clorexidina foram pesadas analiticamente e submetidas à preparação conforme técnica descrita no item 6.2.5.1 e foram analisadas em triplicata no mesmo dia, no mesmo aparelho e pelo mesmo operador.

No ensaio de precisão intermediária, estas mesmas amostras foram analisadas novamente em triplicata, mas em dia diferente e por operador diferente.

6.2.6 Avaliação da influência de componentes químicos na estabilidade do produto acabado

Com o objetivo de avaliar a possível influência de alguns componentes na estabilidade da formulação, foram manipuladas preparações com as seguintes composições conforme tabela abaixo:

TABELA 4 – COMPOSIÇÃO DAS PREPARAÇÕES

	COMPOSIÇÃO
01	PASTA DE CLOREXIDINA+CARBONATO DE CÁLCIO + METILPARABENO (SEM SACARINA)
02	PASTA DE CLOREXIDINA+CARBONATO DE CÁLCIO + METILPARABENO (SEM ESSÊNCIA)
03	PASTA DE CLOREXIDINA+ CARBONATO DE CÁLCIO + METILPARABENO (SEM SACARINA / SEM ESSÊNCIA)
A	SUSPENSÃO DE CARBONATO DE CÁLCIO + CLOREXIDINA
B	SUSPENSÃO DE CARBONATO DE CÁLCIO + METILPARABENO
C	SUSPENSÃO CARBONATO DE CÁLCIO + CLOREXIDINA + METILPARABENO
*	PASTA DENTIFRÍCIA + p-CLOROANILINA

Estas preparações foram armazenadas por 72 horas em estufa com uma temperatura controlada de 80 °C e após este período submetidas a análise por CLAE, sendo a amostra preparada para análise conforme o item 6.2.5.1.

6.2.7 Análise estatística dos resultados

Os resultados obtidos com as formulações submetidas ao estudo preliminar acelerado de estabilidade foram analisados pelo método estatístico da variância (ANOVA), seguido do Teste de Comparações Múltiplas de Tukey.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE DOSEAMENTO DA CLOREXIDINA POR CLAE

7.1.1 Desenvolvimento

As farmacopéias espanhola, inglesa, europeia e helvética definem como método de doseamento da solução de digluconato de clorexidina o método de titulação potenciométrica e a farmacopéia americana (2002) referencia o método por CLAE utilizando o sistema de gradiente linear. Porém, nenhuma das farmacopéias citadas, apresenta uma metodologia de extração e doseamento do digluconato de clorexidina incorporada em uma pasta dentifírcia.

Tendo em vista que o objetivo deste trabalho é o de desenvolver um dentifírcio como veículo para a clorexidina e fazer um estudo preliminar de sua estabilidade, foi necessário o desenvolvimento e a validação de uma metodologia analítica que permitisse quantificar a clorexidina também quando incorporada neste veículo.

A primeira etapa do desenvolvimento analítico foi a adequação de uma fase móvel para que se pudesse trabalhar em um sistema isocrático e obter uma boa resolução do fármaco em relação aos possíveis interferentes oriundos da formulação. Tomou-se como referência de partida a fase móvel descrita pela USP (2002).

Partindo-se da fase móvel descrita, foram realizadas modificações até se obter a fase móvel composta de acetonitrila – fosfato de trietilamina – água na proporção de 39:26:35 (v/v), com pH = 3,0, a qual permitiu uma boa separação dos picos correspondentes aos compostos que absorviam em 239

nm, possíveis interferentes. Ex.: sacarina, metilparabeno conforme figuras 4, 5, 6 e 7.

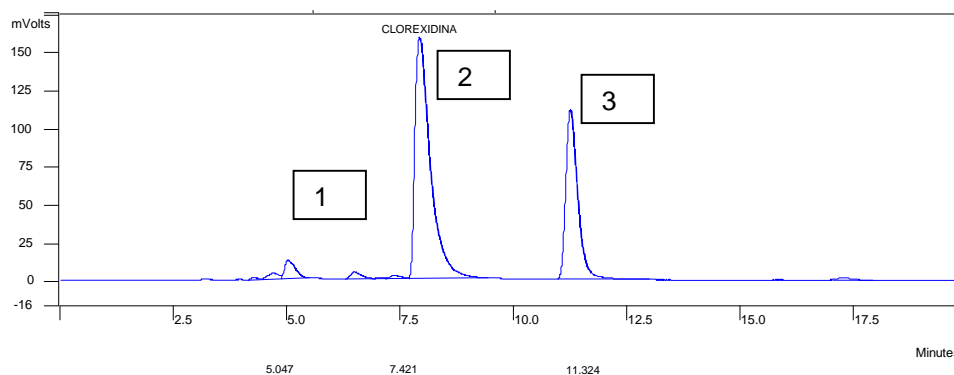
Outra dificuldade encontrada foi a extração quantitativa da clorexidina da formulação, que após inúmeras tentativas com diferentes solventes, concluiu-se que o extrator que se mostrou mais adequado foi a própria fase móvel.

Na seqüência foram ajustados os parâmetros cromatográficos conforme apresentados na tabela 4.

TABELA 5 - PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS DO MÉTODO DESENVOLVIDO

PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS	ESPECIFICAÇÃO
COLUNA CROMATOGRÁFICA	MICROSORB - MV 100 C-18 25 CM X 4,6 MM, COM DIÂMETRO EXTERIOR ¼ POLEGADA, DE AÇO INOXIDÁVEL
ELUIÇÃO	ISOCRÁTICA
FASE MÓVEL	ACETONITRILA+FOSFATO DE TRIETILAMINA+ÁGUA (39:26:35 V/V)
FLUXO DE CORRIDA	0,5 ml/min
TEMPO DE CORRIDA	20 min
DETECTOR UV-VIS	239 nm
VOLUME DE INJEÇÃO	20 µl

FIGURA 3 - CROMATOGRAMA OBTIDO PARA A PASTA DENTIFRÍCIA PEDIÁTRICA COM CLOREXIDINA NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO NO T0.



Identificação dos picos: 1 = sacarina; 2 = clorexidina; 3 = metilparabeno.

7.1.2 Validação

Segundo SANCHEZ et al. (1993), o desenvolvimento de um método analítico envolve a definição das características e requerimentos que um método deve satisfazer, a definição dos parâmetros de adequabilidade que garantem a boa performance do sistema durante as análises e a validação, que permite conhecer a confiabilidade do método.

O objetivo da validação é garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tal, é essencial que equipamentos e materiais estejam calibrados e os analistas devidamente qualificados e treinados (ANVISA, 2002-RE nº 560).

É importante destacar que não há um método único para efetuar a validação. A grande variedade de substâncias, aliada às suas complexidades e a diversidade de métodos, torna impossível estabelecer um sistema de validação universal. Portanto, é importante um bom planejamento onde sejam avaliados os requerimentos legais e o método analítico escolhido (SANCHEZ et al., 1993).

Os parâmetros analíticos típicos considerados em um processo de validação são: especificidade, linearidade, exatidão e precisão (PELLIM, 1996).

7.1.2.1 Especificidade

Considerando-se que a especificidade é a capacidade de demonstrar experimentalmente a separação e identificação do fármaco de interesse frente à presença de outras substâncias, pela análise dos cromatogramas obtidos e apresentados nas figuras 3 e 7, verifica-se que se obteve uma completa separação da clorexidina (tempo de retenção (t_r) de 7,6 minutos) dos outros componentes da formulação (conservantes, edulcorantes).

Os picos do cromatograma foram identificados por comparação com os tempos de retenção das substâncias analisadas individualmente (figuras 4, 5 e 6) que forneceram $t_r=7,7$ min para a clorexidina; $t_r=5,3$ min para a sacarina e $t_r=11,5$ min para o metiparabeno.

Pelo exposto acima, conclui-se que o método analítico desenvolvido permitiu a identificação da clorexidina na presença das demais substâncias da formulação que apresentam absorção no mesmo comprimento de onda que a clorexidina.

FIGURA 4 – CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO DE CLOREXIDINA

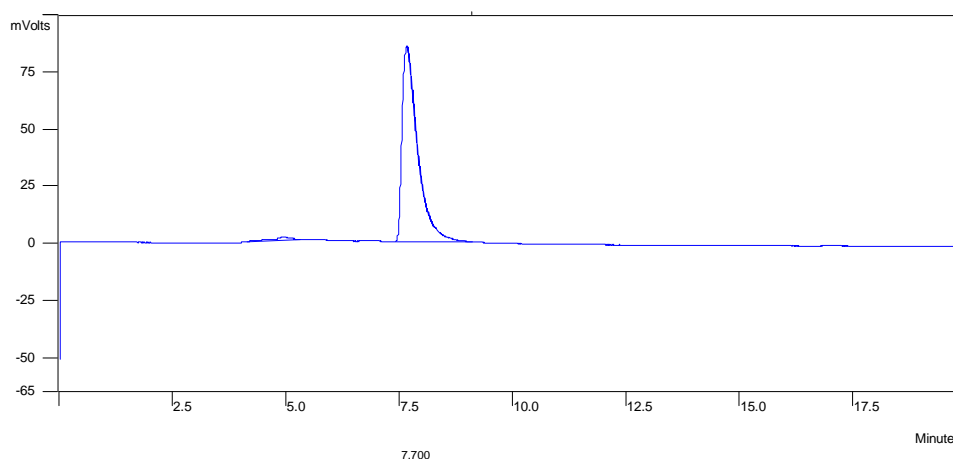


FIGURA 5 – CROMATOGRAMA DA SACARINA

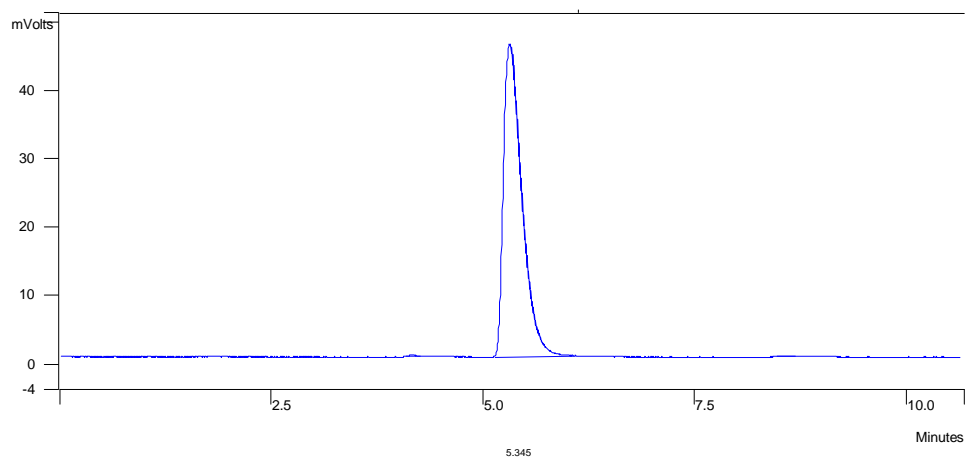


FIGURA 6 – CROMATOGRAMA DO METILPARABENO

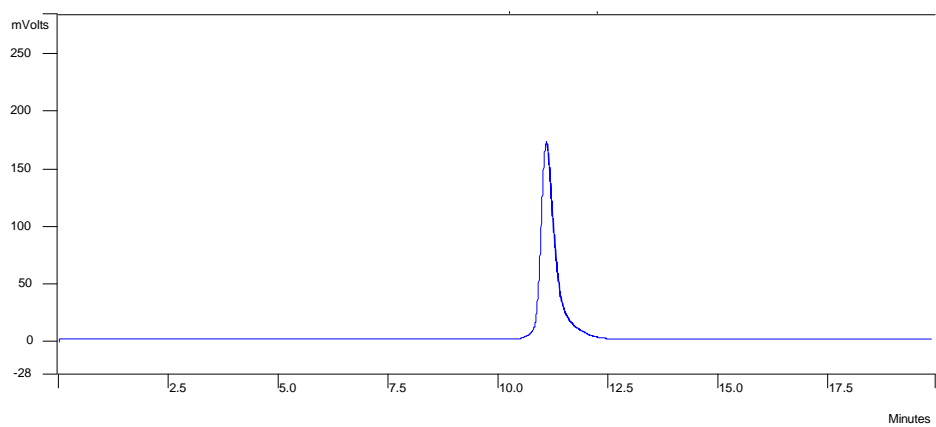
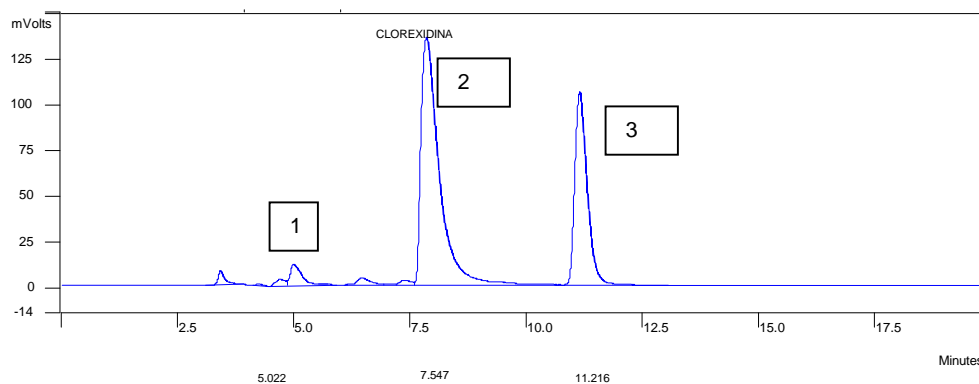


FIGURA 7 - CROMATOGRAMA OBTIDO PARA A PASTA DENTIFRÍCIA PARA USO ADULTO COM CLOREXIDINA NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO NO T0.



Identificação dos picos: 1 = sacarina; 2 = clorexidina; 3 = metilparabeno.

Os cromatogramas obtidos das pastas de uso pediátrico e adulto (Figuras 3 e 7) mostram picos com tempos de retenção semelhantes aos picos das substâncias analisadas individualmente (Figuras 4, 5 e 6).

Considerando ainda que a especificidade é a capacidade de demonstrar experimentalmente a seleção entre compostos com estruturas relacionadas, deve haver resolução entre o sinal correspondente à clorexidina e o sinal correspondente à impureza p-cloroanilina (Figura 21) e possíveis produtos de degradação.

7.1.2.2 Linearidade

A linearidade do método foi verificada através da construção de uma curva padrão de clorexidina em diferentes concentrações (40, 50, 100, 140 e 200 µg/ml). A representação gráfica dessa curva pode ser observada na figura 8.

A curva padrão da clorexidina apresentou um coeficiente de correlação $r = 0,999782$, próximo de 1, demonstrando que há correlação linear entre as concentrações e as áreas dos picos na faixa de concentração analisada.

7.1.2.3 Sensibilidade

A sensibilidade do método é obtida pela inclinação da reta da curva padrão, sendo que neste método foi de 0,623739535.

7.1.2.4 Exatidão

A exatidão do método para a quantificação da clorexidina por CLAE foi verificada através de ensaios de recuperação. Em uma amostra de pasta dentífrica, foi adicionada uma concentração conhecida de clorexidina padrão. Dessa amostra, foram realizadas três pesadas que foram preparadas conforme o descrito no item 6.2.5.1. Foram feitas determinações em triplicata e os resultados são mostrados na tabela 6.

O método de quantificação da clorexidina por CLAE mostrou-se exato, tendo em vista que as porcentagens de recuperação obtidas neste ensaio estão próximas de 100 % (102,03 %, 102,68 % e 102,28 %) e situa-se dentro do limite, que é considerado aceitável, de 95 % a 105 % (LEITE, 2002).

7.1.2.5 Precisão

A precisão foi avaliada através da repetibilidade e da precisão intermediária, não sendo analisada a reprodutibilidade do método, tendo em vista que não foi realizada uma triagem de medidas interlaboratoriais.

Os resultados de repetibilidade e precisão intermediária apresentaram desvios padrões (máximo de 0,7465 para a repetibilidade e menores que 0,5953 para a precisão intermediária) dentro dos limites de valores aceitáveis, ou seja, inferior a 1 % em análises realizadas no mesmo dia e inferiores a 2 % em análises realizadas em dias diferentes, por analistas diferentes (CHASIN, 1998). Estes resultados mostram que o método apresenta boa precisão intra-dia e inter-dias (Tabela 7 e 8).

FIGURA 8 – CURVA DE CALIBRAÇÃO DO DIGLUCONATO DE CLOREXIDINA

Calibration Curve Report

File: c:\star\metodos\maluestabset.mth

Detector: ProStar/Dynamax System, Address: 24, Channel ID: 1

CLOREXIDINA

External Standard Analysis

Curve Type: Linear

Origin: Force

$y = +5.439464e+004x$

Resp. Fact. RSD: 0.9875%

Coeff. Det.(r²): 0.999782

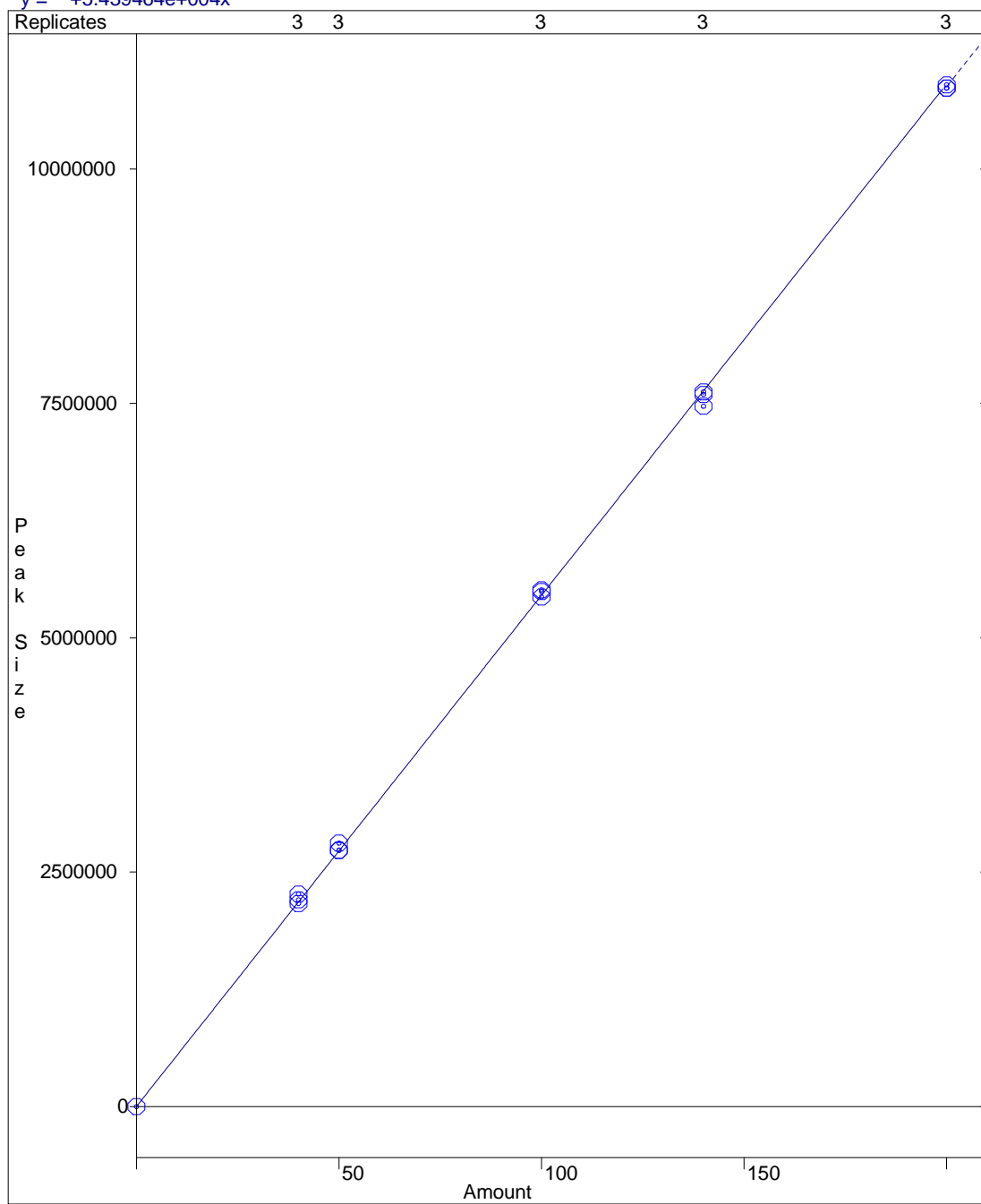


TABELA 6 - RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DA CLOREXIDINA PADRÃO NA PASTA DENTIFRÍCIA (%) (n=9)

AMOSTRA	QUANTIDADE ADICIONADA μg/g	QUANTIDADE RECUPE- RADA	DOSEAMENTO %	MÉDIA	DP(±)	EPM	CV(%)
AMPAD1 – 1	50,59	50,98	100,77	100,75	0,7953	0,4591	0,79
AMPAD1 – 2	50,93	51,71	101,53				
AMPAD1 – 3	50,60	50,57	99,94				
AMPAD2 – 1	71,12	71,20	100,11	100,98	0,8031	0,4637	0,80
AMPAD2 – 2	71,04	72,24	101,69				
AMPAD2 – 3	70,47	71,28	101,15				
AMPAD3 – 1	101,08	100,68	99,60	99,96	0,5231	0,3020	0,52
AMPAD3 – 2	100,78	101,35	100,56				
AMPAD3 – 3	101,13	100,85	99,72				

Legenda: DP = Desvio padrão; EPM = Erro padrão da média; CV= Coeficiente de variação.

7.1.2.6 Análise da pasta dentifrícia comercial com clorexidina marca CARIAX®

Um exemplar de uma pasta dentifrícia comercial contendo clorexidina de nome CARIAX® (prazo de validade = 06/2005) foi obtido com procedência da cidade de Madrid, Espanha. Uma amostra desta pasta foi pesada e preparada segundo a técnica descrita no item 6.2.5.1 e injetada no aparelho de CLAE (data do teste = 19/12/2003). O cromatograma obtido pode ser visualizado na figura 9.

TABELA 7 - RESULTADOS DO ENSAIO DE REPETIBILIDADE (%) (n=9)

AMOSTRA	DOSEAMENTO	MÉDIA	DP(±)	EPM	CV(%)
MPL1 – 1	100,06	100,62	0,7465	0,4310	0,74
MPL1 – 2	100,34				
MPL1 – 3	101,47				
MPL2 – 1	100,87	100,70	0,5204	0,3005	0,52
MPL2 – 2	101,12				
MPL2 – 3	100,12				
MPL3 – 1	101,01	101,27	0,3235	0,1868	0,32
MPL3 – 2	101,63				
MPL3 – 3	101,16				

Legenda: DP = Desvio padrão; EPM = Erro padrão da média; CV= Coeficiente de variação.

FIGURA 9 – CROMATOGRAMA DA PASTA DENTIFRÍCIA CARIAX®, COM CLOREXIDINA

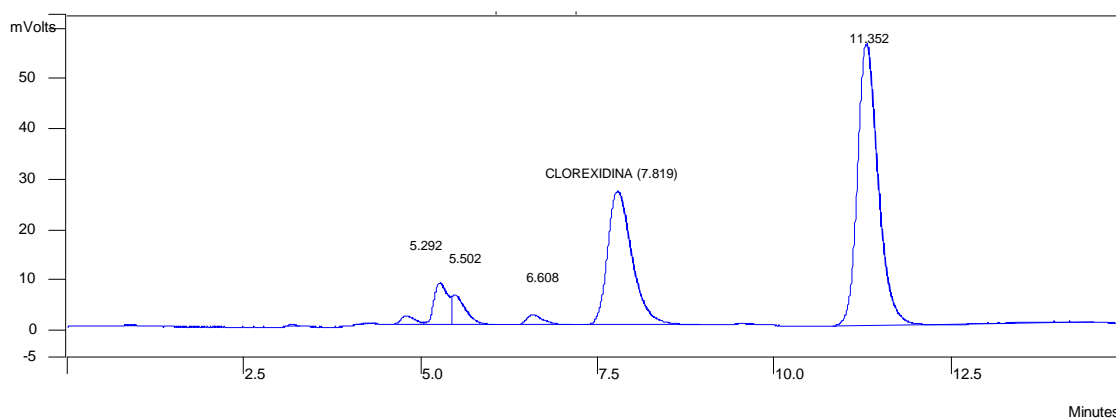


TABELA 8 - RESULTADOS DO ENSAIO DE PRECISÃO INTERMEDIÁRIA (%)
(n=9)

AMOSTRA	OPERADOR A	DP (\pm) A	EPM A	CV (%) A	OPERADOR B	DP (\pm) B	EPM B	CV (%)B
MPL1 – 1	100,06	0,7465	0,4310	0,74	100,91	0,4223	0,2438	0,42
MPL1 – 2	100,34				100,08			
MPL1 – 3	101,47				100,63			
MÉDIA	100,62				100,54			
MPL2 – 1	100,87	0,5204	0,3005	0,52	99,38	0,5953	0,3437	0,60
MPL2 – 2	101,12				99,25			
MPL2 – 3	100,12				98,29			
MÉDIA	100,70				98,97			
MPL3 – 1	101,01	0,3235	0,1868	0,32	101,43	0,3828	0,2210	0,38
MPL3 – 2	101,63				102,19			
MPL3 – 3	101,16				101,89			
MÉDIA	101,27				101,84			

Legenda: DP A = Desvio padrão do operador A; EPM A = Erro padrão da média do operador A; CV A= Coeficiente de variação do operador A; DP B = Desvio padrão do operador B; EPM B = Erro padrão da média do operador B; CV B= Coeficiente de variação do operador B.

Analisando-se a figura 9, pode-se observar a presença do pico da clorexidina, com um $t_r = 7,8$ min, semelhante ao do padrão (Figura 4), bem como o pico com $t_r = 5,3$ min, semelhante ao da sacarina (Figura 5) e um pico com $t_r = 11,3$ min, valor esse muito próximo ao do metilparabeno (Figura 6).

O teor de clorexidina encontrado nessa amostra, por esse método, foi de 101,19 %, valor esse dentro do esperado, ou seja, 90 % a 110 % do valor declarado.

O objetivo da realização deste ensaio foi testar a eficiência do método de doseamento da clorexidina como controle de qualidade de produtos de higiene oral.

7.2 ANÁLISE DA MATÉRIA-PRIMA CLOREXIDINA

O teste C de identificação da monografia do digluconato de clorexidina segundo a USP (2002) foi positivo, desenvolvendo uma coloração vermelha acentuada.

A determinação do pH da matéria-prima apresentou o resultado de 6,53 (n=3), que está dentro dos limites de 5,5 a 7,0 especificados na USP (2002).

O teor de clorexidina encontrado na determinação por CLAE na matéria-prima estava abaixo das especificações da USP (2002), que é de não menos que 19,0 % e não mais que 21,0 % de clorexidina. O valor encontrado foi de 14,38 %, sendo que este valor foi levado em consideração no cálculo do teor de clorexidina no estudo de estabilidade.

7.3 DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO DO DENTIFRÍCIO

A função principal de um dentifrício é eliminar a placa microbiana aderida em uma superfície com o mínimo dano a ela, e isto se faz utilizando um pó abrasivo suave ao qual se adiciona um agente tensoativo, que irá ajudar na penetração e eliminação da película aderida. A espuma produzida tem também um efeito psicológico, deixando a limpeza dental mais agradável. Esta formulação deve ser elaborada na forma de pasta visando a comodidade de seu envasamento e para isto se faz necessário adicionar substâncias com propriedades umectantes, evitando-se assim o ressecamento desta. Faz-se necessária também a adição de um agente gelificante, visando aumentar a viscosidade da fase líquida. Finalmente deve-se adicionar conservantes, corantes, flavorizantes, edulcorantes e princípios ativos, que não sejam tóxicos e irritantes nas condições de uso. O produto formado deve se manter estável na temperatura de 0 °C até 37 °C.

Uma pasta dentifrícia com finalidade cosmética passa a ter finalidade terapêutica quando nela são incorporados princípios ativos, sendo

necessário também a avaliação da compatibilidade dos mesmos com esse veículo.

Para a elaboração de um dentifrício que possua um desempenho efetivo de suas funções, é necessária uma seleção criteriosa de matérias-primas evitando-se incompatibilidades e obtendo-se uma boa incorporação dos agentes.

Foram elaboradas vinte e nove formulações diferentes (Tabela 8), variando-se o espessante e o umectante, procurando-se avaliar quais os mais adequados para a formulação, levando-se em consideração características organolépticas e reológicas, consistência, incompatibilidades e custo.

Dentre os espessantes, avaliou-se o comportamento da hidroxietilcelulose, a goma guar, a fécula de batata e o amido modificado.

Os espessantes mais indicados para os dentifrícios são os derivados da celulose. Para esse estudo, foi escolhida a hidroxietilcelulose, polímero não iônico. É compatível com a clorexidina por ser não iônica, diferentemente da carboximetilcelulose, que seria incompatível por ser aniônica.

A hidroxietilcelulose, polímero hidroxietil éter de celulose, dissolve-se facilmente em água, quente ou fria, e é capaz de produzir geleificação à baixa concentração, conferir viscosidade e estabilidade ao produto durante o armazenamento, ser inerte e inócua, compatível com os componentes da formulação e material de acondicionamento. É usada para produzir soluções em uma larga escala de viscosidade. Estas soluções são pseudoplásticas, isto é, variam a viscosidade dependendo do cisalhamento aplicado. Na formulação empregou-se a hidroxietilcelulose 250 HHR®.

A goma guar e a fécula de batata não foram selecionadas por não fornecerem um dentifrício com características organolépticas adequadas e por serem facilmente contaminadas, representando um meio de cultura propício para o desenvolvimento de microrganismos.

O amido modificado (Resource ®) não foi escolhido pela necessidade de uma concentração elevada para espessar o meio e pelo custo elevado.

Com relação ao umectante, testou-se a glicerina, o sorbitol, o polietilenoglicol, o propilenoglicol e uma associação dos mesmos.

A glicerina, quimicamente o 1,2,3-propanotriol ($C_3H_8O_3$), possui funções como umectante, emoliente, plastificante e conservante. Não foi

escolhida por dar origem a uma formulação com aparência de elevada pegajosidade, não aceitável para uma pasta dentifrícia, apesar de ser o umectante com maior poder de retenção de água.

Os polietilenoglicóis são amplamente empregados em formulações farmacêuticas e possuem características distintas de acordo com o seu peso molecular. Não foi utilizado por razões de custo, uma vez que se busca uma formulação apropriada e de baixo custo.

O propilenoglicol é empregado em formulações como umectante e solubilizante, sendo seguro para formulações orais.

O sorbitol (D-glucitol) é um excipiente freqüentemente utilizado em formulações farmacêuticas, cosméticas e produtos alimentícios, possuindo propriedades umectantes e plastificantes. Normalmente é comercializado em soluções a 70 %.

Entre o propilenoglicol e o sorbitol, não foram encontradas diferenças nas características organolépticas ou de custo, mas deu-se preferência para o sorbitol pelo fato do mesmo ser adocicado, fator este que contribui para mascarar o sabor amargo da clorexidina.

Na composição do dentifrício não foi adicionado um tensoativo devido ao fato de que a formação de espuma poderia ser um aspecto negativo na higienização da cavidade oral de pacientes que apresentem necessidades especiais.

TABELA 9 – FORMULAÇÕES DE DENTIFRÍCIOS DESENVOLVIDAS

FÓRM.	ESPESSANTES				UMECTANTES						
	HIDROXI ETIL CELULOSE	GOMA GUAR	FÉCULA DE BATATA	AMIDO MODIFI- CADO	GLI- CE- RINA	SOR- BITOL	PROPI- LENO- GLICOL	GLIC. + SORB.	GLIC. + PROFIL.	SORB. + PROFIL.	POLI- ETILENO GLICOL
1	2g					4g					4g
2	2g					8g					8g
3	2g				4g						4g
4	2g				8g						
5	2g					8g					
6	2g										
7	2g										8g
8	2g				20g						
9	2g					20g					
10	2g										
11			2g		20g						
12			2g			20g					
13			2g				20g				
14			2g					10+10g			
15			2g						10+10g		
16			2g							10+10g	
17				2g	20g						
18				2g		20g					
19				2g			20g				
20		2g			20g						
21		2g				20g					
22		2g					20g				
23		2g						10+10g			
24		2g							10+10g		
25		2g								10+10g	
26	2g					20g					
27		2g				20g					
28			2g			20g					
29	2g							10+10g			

Legenda: FORM. = Fórmula; GLIC.=Glicerina, SORB.= Sorbitol; PROPIL.= Propilenoglicol.

Tendo em vista estas considerações, a formulação que atendeu os requisitos e escolhida foi a de número 26, e a partir desta foram desenvolvidas duas formas de apresentação: uma para adulto, sabor hortelã (H) e outra pediátrica, sabor morango (M), estando a composição descrita na tabela 10. As pastas foram envasadas em duas embalagens, uma de alumínio (AL) e outra de polipropileno (PL).

TABELA 10: COMPOSIÇÃO DAS PASTAS DENTIFRÍCIAS

Composição	Fórmula para pediatria	Fórmula para adultos
Hidroxietilcelulose	2,0 g	2,0 g
Metilparabeno	0,2 g	0,2 g
Sorbitol a 70 %	20,0 g	20,0 g
Carbonato de cálcio	10,0 g	10,0 g
Sacarina	0,5 g	0,5 g
Essência de morango / hortelã	0,15 ml	0,15 ml
Digluconato de clorexidina	3,0 ml	3,0 ml
Água destilada q.s.p.	100,0 g	100,0 g

7.4. CONTROLE DE QUALIDADE DO PRODUTO ACABADO

Os dentifícios adulto e pediátrico foram submetidos aos ensaios de determinação de pH, densidade, consistência, características reológicas, atividade antimicrobiana, doseamento e avaliação das características organolépticas.

TABELA 11 - PARÂMETROS DE QUALIDADE DA PASTA DENTIFRÍCIA DE CLOREXIDINA A 0,6%

PARÂMETROS	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO PASTA PEDIÁTRICA	RESULTADO PASTA ADULTO
ASPECTO	HOMOGENEO	HOMOGENEO	HOMOGENEO
BRILHO	PRESENÇA	PRESENÇA	PRESENÇA
COR	BRANCA	BRANCA	BRANCA
SABOR	AMARGO	AMARGO	AMARGO
pH	4,5 a 10,5	8,43	8,48
DENSIDADE (g/cm ³)	- X -	1,055	1,053
CONSISTÊNCIA(mm ²)	- X -	10,28	9,81
TEOR (%)	90 % a 110 %	95,32	99,41
ATIV. ANTIMICROB. (HALO DE INIBIÇÃO)	PRESENÇA	PRESENÇA	PRESENÇA

As características organolépticas, aspecto, brilho, cor e sabor das formulações dentifrícias elaboradas estão citadas na tabela 11. Esses aspectos serviram de parâmetro para a análise posterior das amostras submetidas ao estudo preliminar acelerado de estabilidade.

Os valores de pH encontrados para o dentifrício pediátrico e adulto foram respectivamente 8,43 e 8,48, próximos ao valor do pH do veículo que era de 8,71 e bem superior ao da solução de clorexidina a 20 % que apresentou um pH de 6,53. Este valor de pH está dentro do intervalo estipulado pela Norma para Dentifrícios da ABO (1999) que é de 4,5 a 10,5 e de eficácia da clorexidina pois se deve ressaltar que, segundo BONESVOLL, LÖKKEN E RÖLLA (1974), baixos valores de pH causam uma redução na retenção da clorexidina pois altera a quantidade e a natureza dos sítios de união para a mesma.

A medida da densidade tem relação com a dispensação do dentifrício e conseqüente veiculação dos agentes ativos. A densidade deve garantir a quantidade mínima efetiva dos agentes ativos dispensada em uma escovação. Segundo a Norma para Dentifrícios da ABO (1999), não há limites de valores. A densidade das pastas dentifrícia pediátrica e adulta forneceu valores de 1,055 e 1,053 respectivamente.

Segundo PRISTA et al. (1995), a consistência é a propriedade apresentada pelos corpos de resistirem às deformações permanentes

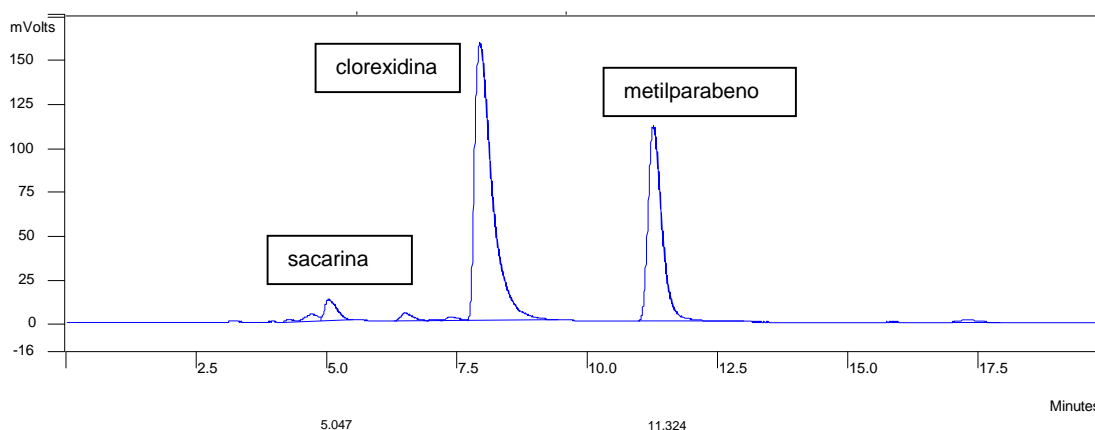
provocadas por uma dada carga. A consistência pode influenciar no desempenho do produto e é fator importante na aceitação do dentífrico pelo consumidor, uma vez que é uma das características responsáveis pelo fluxo na aplicação sobre a escova dental, assim como pela dispersão durante a escovação.

Segundo PANZERI et al. (1979), a consistência é também um fator importante no grau de abrasividade provocada pelos dentífricos, isto é, um aumento ou diminuição da fluidez do veículo, modifica a abrasão.

A Norma para Dentífricos da ABO (1999) não apresenta exigências de limites para a consistência, mas os valores iniciais devem ser mantidos durante a vida útil do produto. Os valores encontrados para as pastas dentífricas pediátrica e adulto foram $10,28 \text{ mm}^2$ e $9,81 \text{ mm}^2$, respectivamente.

Após o desenvolvimento da metodologia analítica para o doseamento da clorexidina na pasta dentífrica, determinou-se o teor da mesma obtendo-se 95,32 % e 99,41 %, respectivamente, valores estes que estão dentro de limites normalmente aceitos para produtos acabados $\pm 5 \%$ a $\pm 10 \%$ do valor declarado, segundo farmacopéias. O cromatograma da pasta pediátrica na embalagem de alumínio pode ser observado na figura 10 e os demais cromatogramas estão nos anexos 10.1 a 10.16.

FIGURA 10 – CROMATOGRAMA DA PASTA PEDIÁTRICA NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO NO T0 (n=3)



Embora a clorexidina tenha sua eficácia antimicrobiana comprovada, faz-se necessário demonstrar que a mesma mantém essa atividade no produto desenvolvido, tendo em vista que componentes da mesma poderiam inativá-la.

Com este propósito, a atividade antimicrobiana *in vitro* das pastas dentifrícias foi observada frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*, comumente encontrados na cavidade oral, conforme método descrito no item 6.2.3.7. Os resultados (tabela 11) mostraram a formação de um halo de inibição ao redor do local de aplicação da pasta com clorexidina e crescimento normal dos microrganismos ao redor da pasta placebo conforme anexos 10.17 a 10.24.

FIGURA 11 - HALOS DE INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DO *Staphylococcus aureus* FRENTE À PASTA DENTIFRÍCIA PARA USO ADULTO NA EMBALAGEM PLÁSTICA NO T0



A reologia estuda a fluidez e a deformação das substâncias sob cisalhamento. Compreende o estudo da fluidez dos materiais. Quando se estuda os fluídos em um viscosímetro rotacional e se elabora um sistema de

coordenadas da velocidade de fluxo em função da força de fluxo, obtém-se reogramas de características próprias, tornando-se possível verificar se o comportamento é newtoniano ou não newtoniano e dentre esse caracterizar a plasticidade, pseudoplasticidade, a dilatância e a presença ou não de tixotropia (PADER, 1993).

Os géis dentais normalmente apresentam comportamento pseudoplástico e a principal característica será a de redução da viscosidade quando submetido a uma elevada tensão de cisalhamento, retornando a viscosidade inicial ao cessar-se o cisalhamento. Além disso, o comportamento tixotrópico também pode estar presente, devido ao aglomerado de partículas que formam uma estrutura similar ao de uma rede, e que sob tensão sofre desestruturação temporária na trama, com perda de viscosidade (PADER, 1993).

Para a determinação do grau de tixotropia, o material em estudo é colocado em um viscosímetro rotacional e submetido a um gradiente de cisalhamento crescente, ocorrendo uma desorganização maior ou menor da estrutura, até que se obtenha o que se chama de ponto superior da curva. Passa-se então a fazer leituras em gradientes de cisalhamento decrescentes. São, assim, obtidas duas curvas, uma ascendente e outra descendente indicando, respectivamente, desorganização e reorganização estrutural do sistema. O traçado dessas duas curvas delimita uma área chamada de histerese que traduz o tempo que o sistema leva para refazer a viscosidade inicial, indicando o seu grau de tixotropia. Quando, nos reogramas, as curvas ascendente e descendente se sobrepõem, não há tixotropia, indicando reorganização estrutural imediata.

A análise de um reograma nos permite uma série de informações importantes para se avaliar um produto com relação à sua aceitação pelo consumidor, à tecnologia de sua preparação, principalmente no caso de dentifrícios que devem ser facilmente retirados pelo orifício do tubo, à manutenção da forma cilíndrica sobre as cerdas da escova após a extrusão, ao espalhamento na cavidade bucal, à biodisponibilidade dos princípios ativos na escovação e o desempenho efetivo de suas funções (PADER, 1993).

A análise dos reogramas não limita valores, mas deve evidenciar as propriedades citadas.

FIGURA 12 - REOGRAMAS DA PASTA DENTIFRÍCIA PEDIÁTRICA

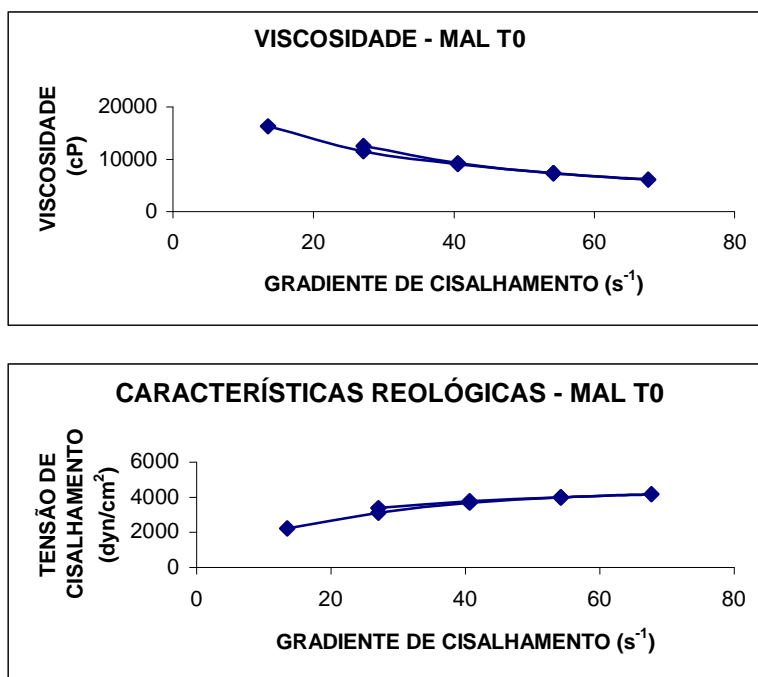
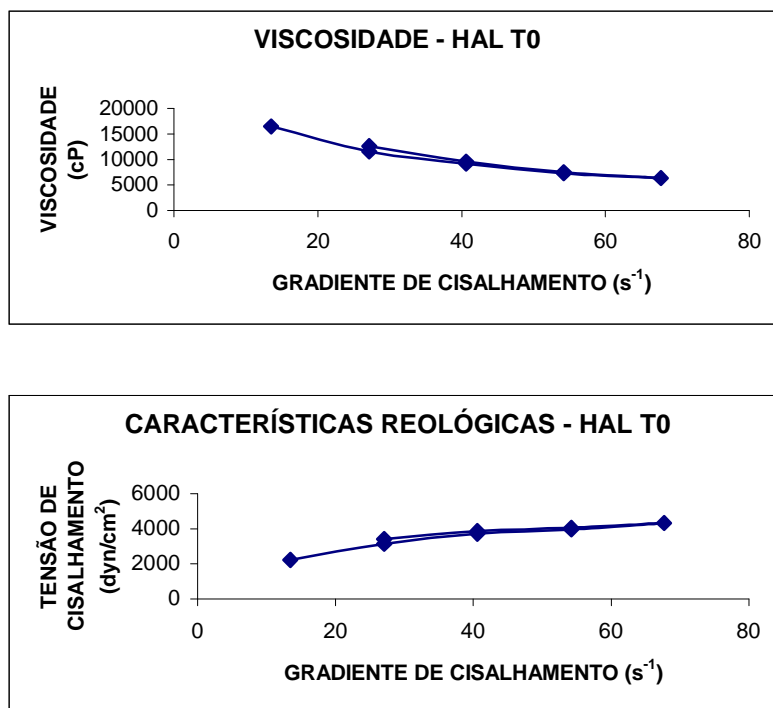


FIGURA 13 - REOGRAMAS DA PASTA DENTIFRÍCIA PARA USO ADULTO



As figuras 12 e 13 mostram os valores de viscosidade e o comportamento reológico das pastas dentífricas pediátrica e adulto na embalagem de alumínio, evidenciando o comportamento pseudoplástico, isto é, apresenta uma redução da viscosidade quando submetido a um gradiente de cisalhamento crescente. Porém, os reogramas apresentados nestas figuras não identificam uma área de histerese, o que evidencia uma pequena ou ausência de tixotropia, ou seja, ocorre uma reorganização imediata da estrutura do sistema.

7.5 ESTUDO PRELIMINAR DA ESTABILIDADE DO PRODUTO ACABADO

A avaliação preliminar da estabilidade das pastas para uso pediátrico e adulto envasadas em embalagem de alumínio e plástico foram submetidas a condições aceleradas, conforme descrito no item 6.2.4 e monitoradas durante um período de 3 meses quanto aos parâmetros de características organolépticas, pH, densidade, consistência, características reológicas, atividade antimicrobiana *in vitro* e doseamento do fármaco, tomando-se como referência os valores obtidos no tempo zero, cujos resultados estão apresentados nas tabelas 12, 13, 14 e 15.

TABELA 12 – RESULTADOS DOS PARÂMETROS MONITORADOS NO ESTUDO DE ESTABILIDADE DA PASTA PEDIÁTRICA NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO (n=3)

PARÂMETROS	ESPECIFICAÇÃO	T0	T1	T2	T3
ASPECTO	HOMOGENEO	HOMOGENEO	HOMOGENEO	HOMOGENEO	HOMOGENEO
BRILHO	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE
COR	BRANCA	BRANCA	BRANCA	LEVEMENTE ESCURECIDA	LEVEMENTE ESCURECIDA
SABOR	AMARGO	AMARGO	AMARGO	AMARGO	AMARGO
ODOR	MORANGO	MORANGO	MORANGO	MORANGO	MORANGO
pH	4,5 a 10,5	8,43 ± 0,020	8,497 ± 0,094	8,413 ± 0,030	8,527 ± 0,011
DENSIDADE (g/ml)	- X -	1,055 ± 0,002	1,056 ± 0,001	1,056 ± 0,005	1,052 ± 0,005
CONSISTÊNCIA (mm ²)	- X -	10,28 ± 0,433	11,15 ± 0,687	10,37 ± 0,161	10,08 ± 0,819
TEOR (%)	90% a 110%	100,71 ± 4,677	93,25 ± 0,471	97,38 ± 0,2136	77,94 ± 0,1050

Legenda: T0 = tempo zero; T1 = tempo 1 mês; T2 = tempo 2 meses; T3 = tempo 3 meses.

TABELA 13 – RESULTADOS DOS PARÂMETROS MONITORADOS NO ESTUDO DE ESTABILIDADE DA PASTA PEDIÁTRICA NA EMBALAGEM PLÁSTICA (n=3)

PARÂMETROS	ESPECIFICAÇÃO	T0	T1	T2	T3
ASPECTO	HOMOGENEO	HOMOGENEO	HOMOGENEO	HOMOGENEO	HOMOGENEO
BRILHO	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE
COR	BRANCA	BRANCA	BRANCA	LEVEMENTE ESCURECIDA	LEVEMENTE ESCURECIDA
SABOR	AMARGO	AMARGO	AMARGO	AMARGO	AMARGO
ODOR	MORANGO	MORANGO	MORANGO	MORANGO	MORANGO
pH	4,5 a 10,5	8,420 ± 0,017	8,617 ± 0,023	8,547 ± 0,028	8,633 ± 0,030
DENSIDADE (g/ml)	- X -	1,050 ± 0,002	1,056 ± 0,0009	1,057 ± 0,002	1,058 ± 0,002
CONSISTÊNCIA (mm ²)	- X -	9,993 ± 0,323	10,56 ± 0,329	10,51 ± 0,297	10,55 ± 0,167
TEOR (%)	90% a 110%	94,98 ± 1,065	92,84 ± 1,221	95,51 ± 2,468	74,45 ± 1,642

Legenda: T0 = tempo zero; T1 = tempo 1 mês; T2 = tempo 2 meses; T3 = tempo 3 meses.

TABELA 14 – RESULTADOS DOS PARÂMETROS MONITORADOS NO ESTUDO DE ESTABILIDADE DA PASTA PARA USO ADULTO NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO (n=3)

PARÂMETROS	ESPECIFICAÇÃO	T0	T1	T2	T3
ASPECTO	HOMOGÊNEO	HOMOGÊNEO	HOMOGÊNEO	HOMOGÊNEO	HOMOGÊNEO
BRILHO	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE
COR	BRANCA	BRANCA	BRANCA	LEVEMENTE ESCURECIDA	LEVEMENTE ESCURECIDA
SABOR	AMARGO	AMARGO	AMARGO	AMARGO	AMARGO
ODOR	HORTELÃ	HORTELÃ	HORTELÃ	HORTELÃ	HORTELÃ
pH	4,5 a 10,5	8,477 ± 0,030	8,617 ± 0,030	8,473 ± 0,025	8,580 ± 0,030
DENSIDADE (g/ml)	- X -	1,053 ± 0,001	1,057 ± 0,001	1,057 ± 0,001	1,058 ± 0,001
CONSISTÊNCIA (mm ²)	- X -	9,807 ± 0,323	10,75 ± 0,000	10,61 ± 0,248	10,55 ± 0,167
TEOR (%)	90% a 110%	97,68 ± 4,585	93,80 ± 3,323	95,30 ± 1,046	76,60 ± 2,087

Legenda: T0 = tempo zero; T1 = tempo 1 mês; T2 = tempo 2 meses; T3 = tempo 3 meses.

TABELA 15 – RESULTADOS DOS PARÂMETROS MONITORADOS NO ESTUDO DE ESTABILIDADE DA PASTA PARA USO ADULTO NA EMBALAGEM PLÁSTICA (n=3)

PARÂMETROS	ESPECIFICAÇÃO	T0	T1	T2	T3
ASPECTO	HOMOGENEO	HOMOGENEO	HOMOGENEO	HOMOGENEO	HOMOGENEO
BRILHO	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE	PRESENTE
COR	BRANCA	BRANCA	BRANCA	LEVEMENTE ESCURECIDA	LEVEMENTE ESCURECIDA
SABOR	AMARGO	AMARGO	AMARGO	AMARGO	AMARGO
ODOR	HORTELÃ	HORTELÃ	HORTELÃ	HORTELÃ	HORTELÃ
pH	4,5 a 10,5	8,540 ± 0,069	8,650 ± 0,020	8,590 ± 0,026	8,633 ± 0,041
DENSIDADE (g/ml)	- X -	1,052 ± 0,001	1,057 ± 0,002	1,058 ± 0,002	1,059 ± 0,0008
CONSISTÊNCIA (mm ²)	- X -	9,807 ± 0,161	10,75 ± 0,290	10,04 ± 0,140	10,64 ± 0,167
TEOR (%)	90% a 110%	96,97 ± 2,406	97,95 ± 1,092	86,54 ± 0,851	73,42 ± 4,012

Legenda: T0 = tempo zero; T1 = tempo 1 mês; T2 = tempo 2 meses; T3 = tempo 3 meses.

Como se pode verificar nas tabelas 12, 13, 14 e 15, praticamente não houve variação nos valores de pH durante o período em que foi monitorado, ou seja, até o terceiro mês.

Observa-se ainda que os valores de densidade e consistência mantiveram-se também praticamente constantes em relação aos valores de referência, não apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) quando submetido ao Teste de Comparação Múltipla de Tukey entre os valores iniciais (T0) e os obtidos nos diferentes tempos em que foram analisados (T1, T2 e T3). As características organolépticas também não apresentaram mudanças com relação ao aspecto, brilho, sabor e odor.

Foram observados sinais de instabilidade em todos os dentifrícios nas diferentes formas de apresentação evidenciadas através de alteração de cor, decréscimo do teor de clorexidina e o surgimento de um novo sinal no cromatograma (anexos 10.1 a 10.16) que sugere instabilidade química.

Apesar da redução em média de 25 % do teor de clorexidina nos diferentes dentifrícios em estudo, foi observado que os mesmos mantêm ainda atividade antimicrobiana *in vitro* através da formação de halos de inibição nos testes realizados com os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*, comumente encontrados na cavidade oral, conforme resultados mostrados na tabela 16 e anexos 10.17 a 10.24.

TABELA 16 – RESULTADO DO TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA PARA A PASTA DE USO ADULTO NA EMBALAGEM PLÁSTICA (n=9)

TEMPO	T0			T3		
	DM (mm)	DP (±)	CV (%)	DM (mm)	DP (±)	CV (%)
MICROORGANISMO						
<i>Staphylococcus aureus</i>	17,00	0,33	1,94	16,56	2,70	16,28
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	22,32	2,00	8,96	26,89	7,72	28,73
<i>Streptococcus mutans</i>	27,67	0,58	2,09	22,33	0,58	2,59
<i>Candida albicans</i>	17,67	0,33	1,90	19,89	0,19	0,96

Legenda: DM = diâmetro médio dos halos de inibição em mm.

Pela análise dos reogramas apresentados nas figuras 14, 15, 16 e 17, observa-se que as amostras apresentaram em T1, T2 e T3 um comportamento pseudoplástico semelhante ao observado no T0, e um pequeno ou nulo grau de tixotropia.

FIGURA 14 – REOGRAMAS DA PASTA PEDIÁTRICA NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO (n=3)

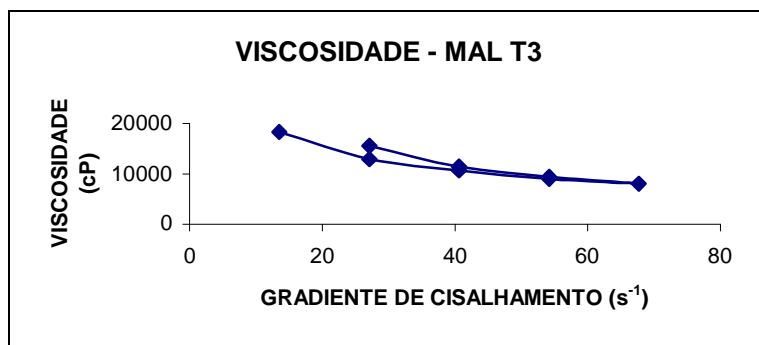
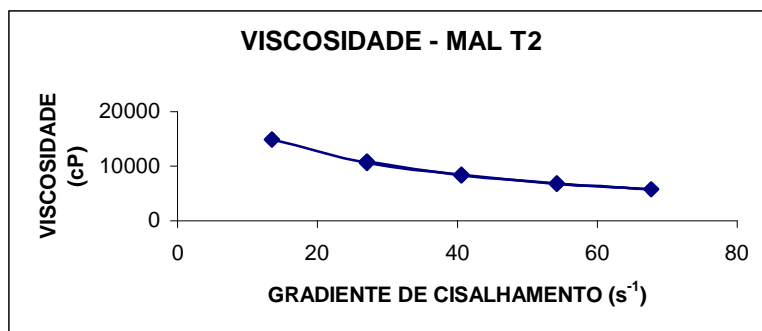
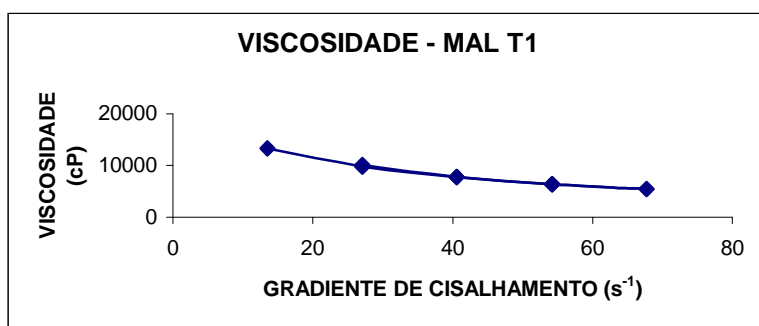
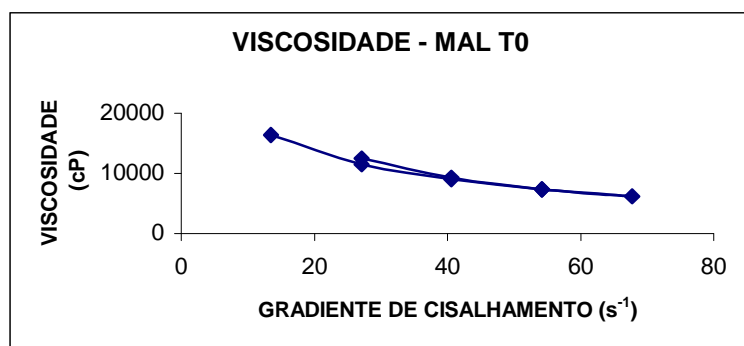


FIGURA 14 – REOGRAMAS DA PASTA PEDIÁTRICA NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO (n=3)

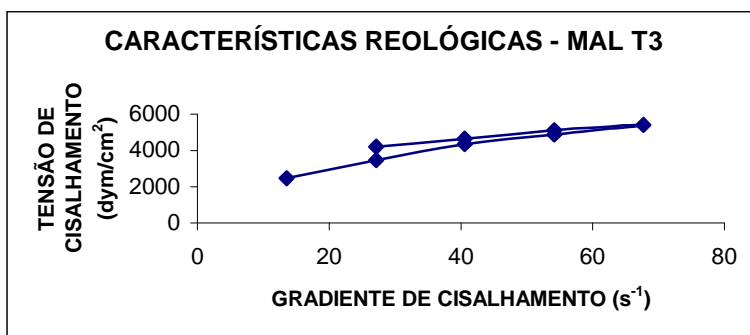
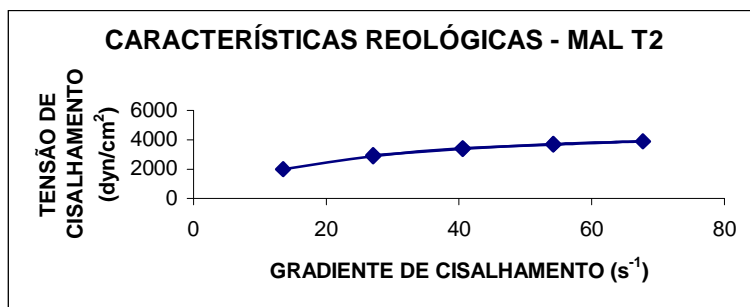
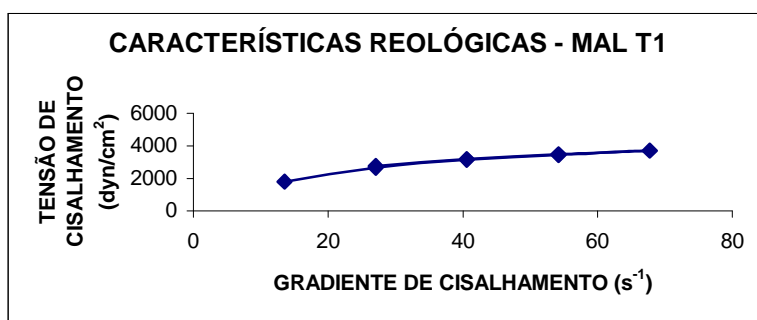
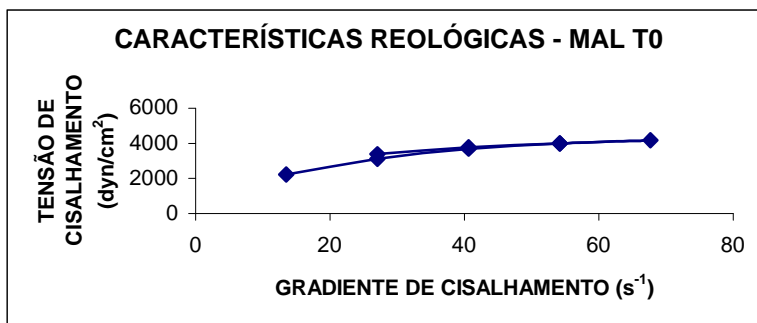


FIGURA 15 – REOGRAMAS DA PASTA PEDIÁTRICA NA EMBALAGEM PLÁSTICA (n=3)

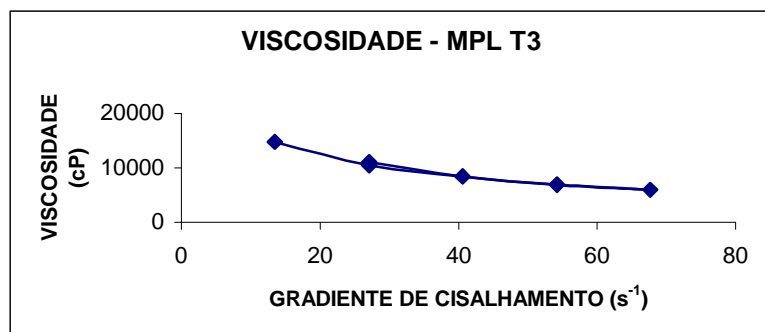
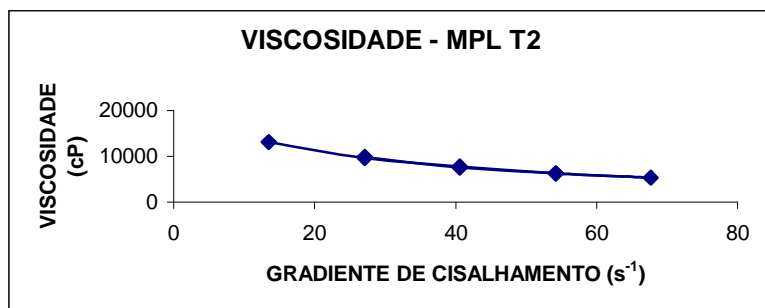
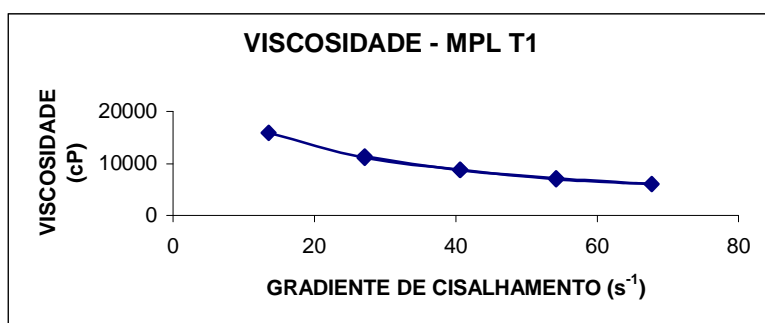
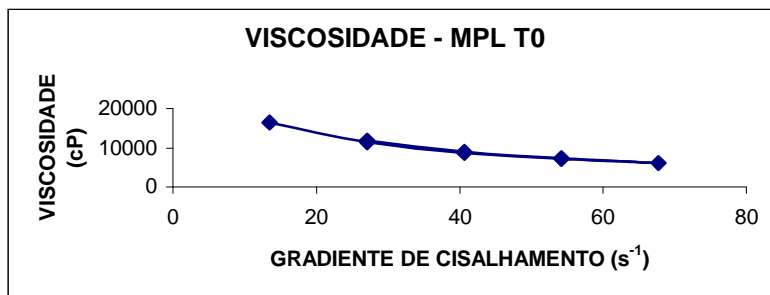


FIGURA 15 – REOGRAMAS DA PASTA PEDIÁTRICA NA EMBALAGEM PLÁSTICA (n=3)

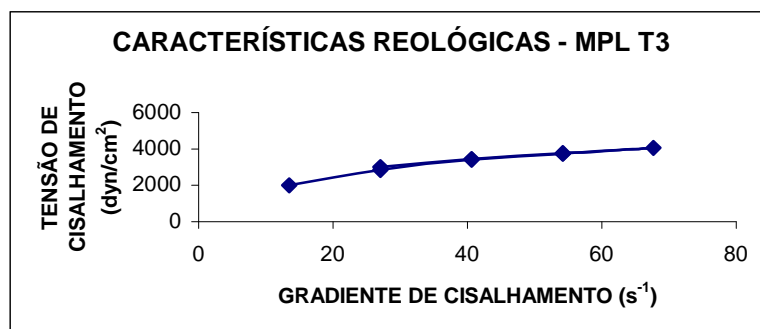
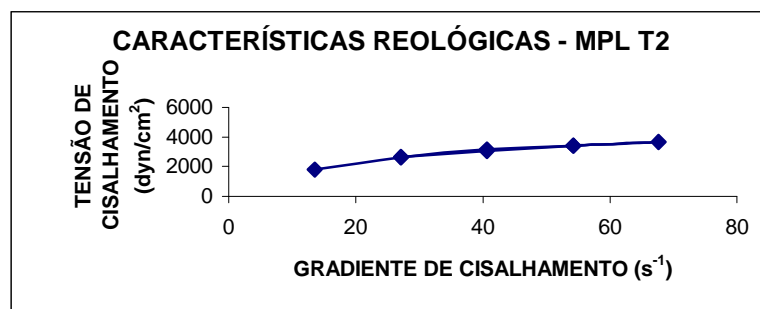
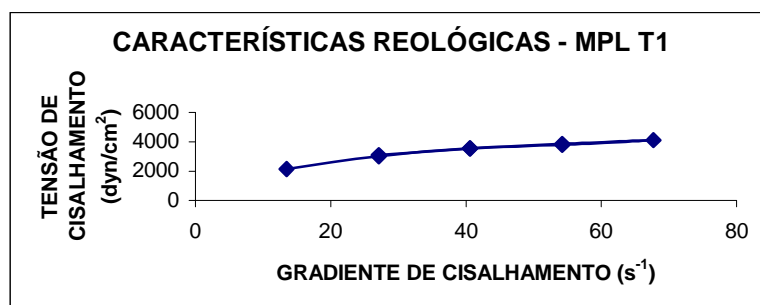
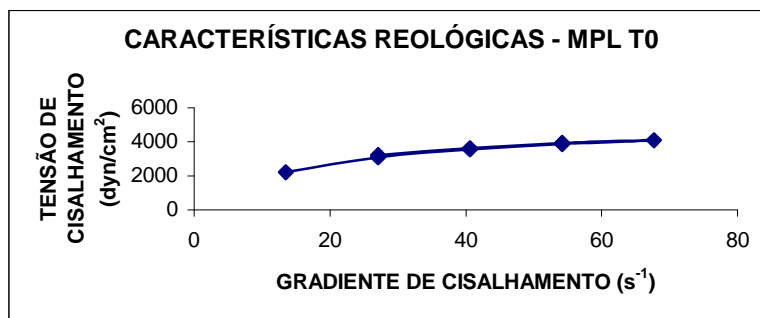


FIGURA 16 – REOGRAMAS DA PASTA PARA USO ADULTO NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO (n=3)

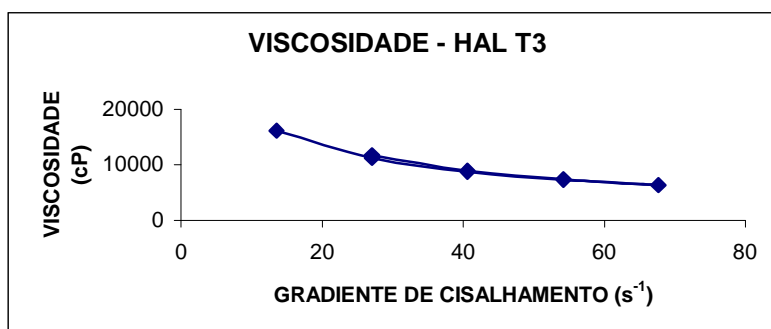
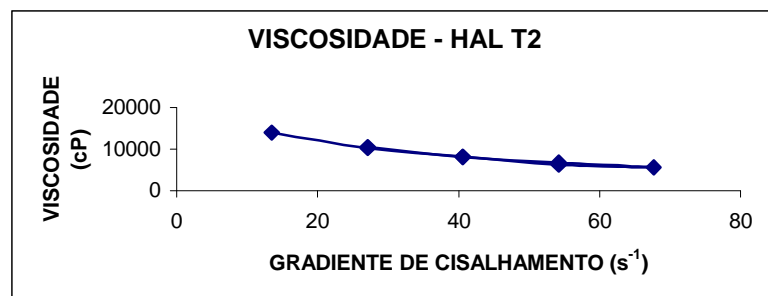
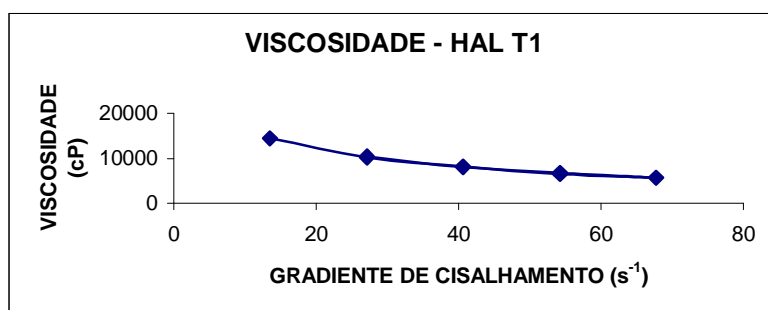
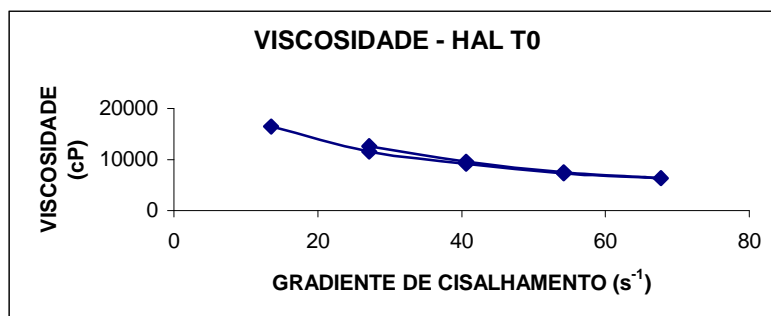


FIGURA 16 – REOGRAMAS DA PASTA PARA USO ADULTO NA EMBALAGEM DE ALUMÍNIO (n=3)

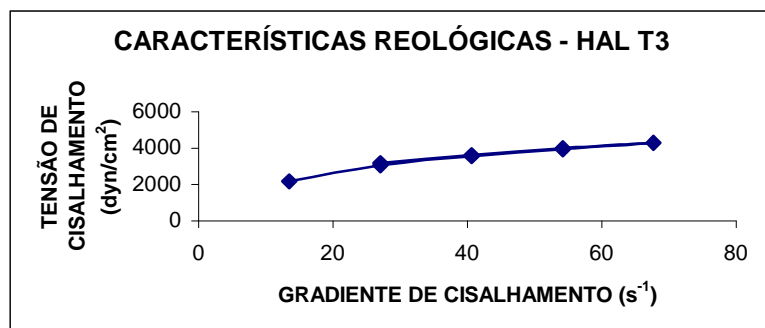
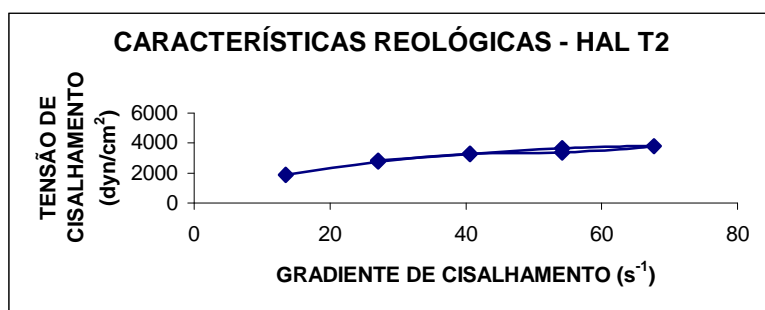
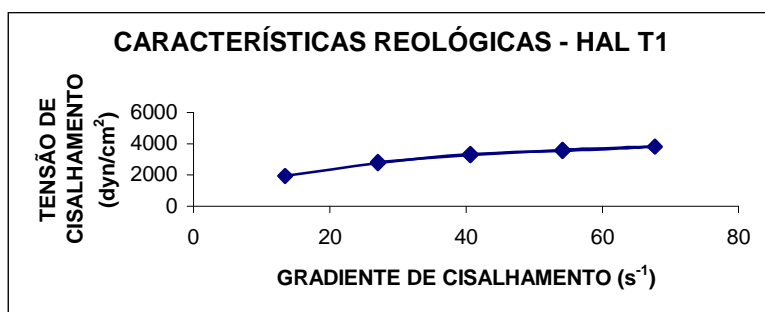
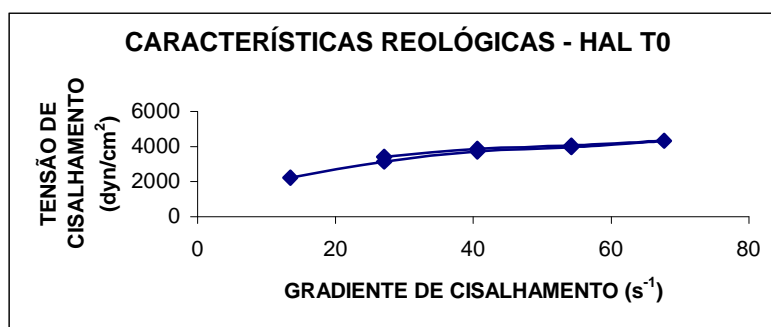


FIGURA 17 – REOGRAMAS DA PASTA PARA USO ADULTO NA EMBALAGEM PLÁSTICA (n=3)

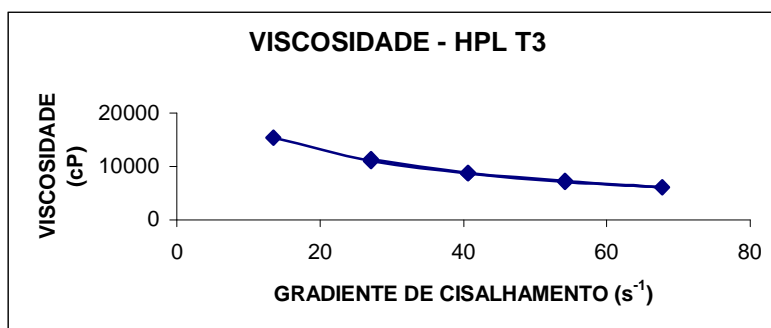
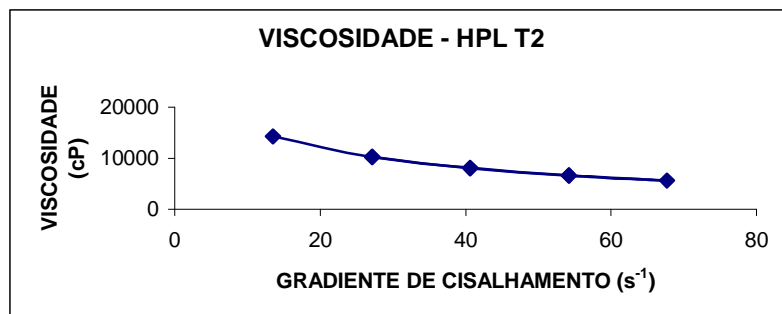
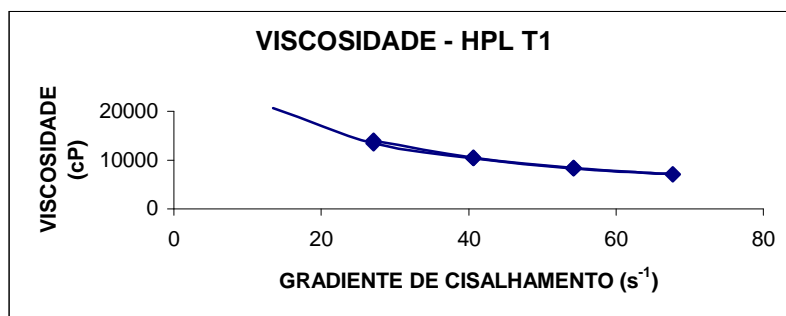
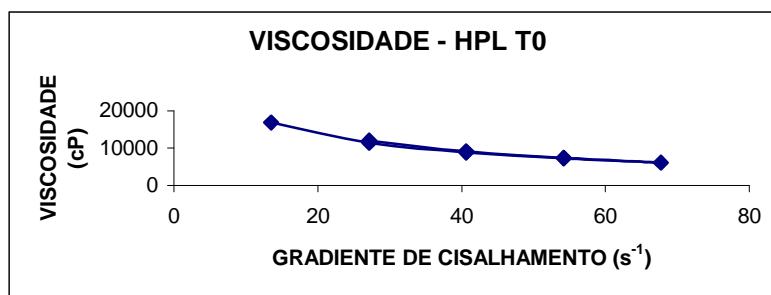
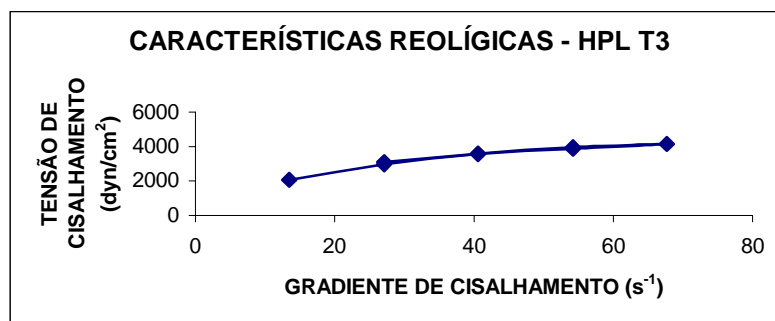
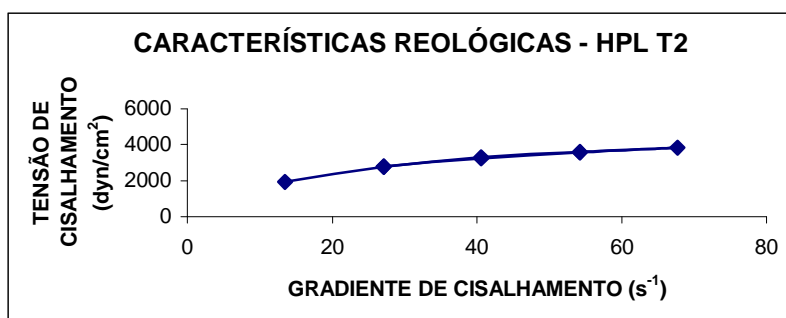
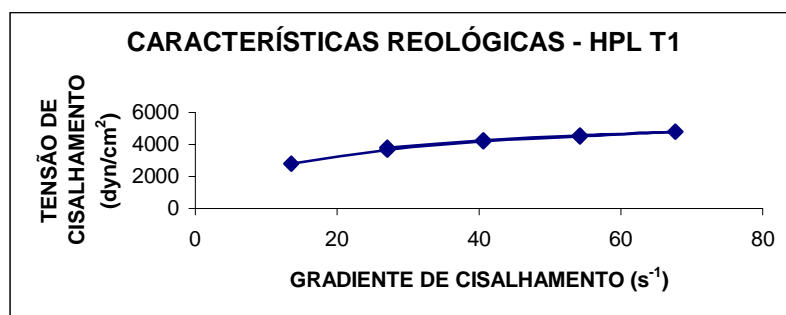
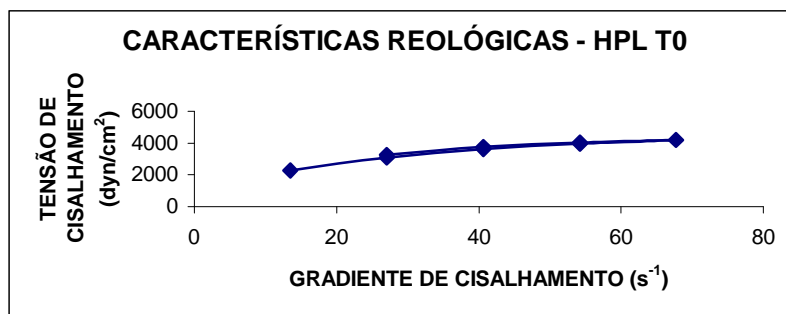


FIGURA 17 – REOGRAMAS DA PASTA PARA USO ADULTO NA EMBALAGEM PLÁSTICA (n=3)



Em função dos resultados do estudo preliminar de estabilidade, em que as pastas mantiveram-se estáveis por um período de dois meses, após o qual mostraram alterações, procurou-se avaliar a possível influência dos componentes na estabilidade da formulação.

Para isto, foram manipuladas as preparações conforme a tabela 4 e foram submetidas à análise por CLAE. Os cromatogramas destas análises estão apresentados nas figuras 18, 19, 20 e 21.

FIGURA 18 - CROMATOGRAMA DA SUSPENSÃO DE CLOREXIDINA E CARBONATO DE CÁLCIO

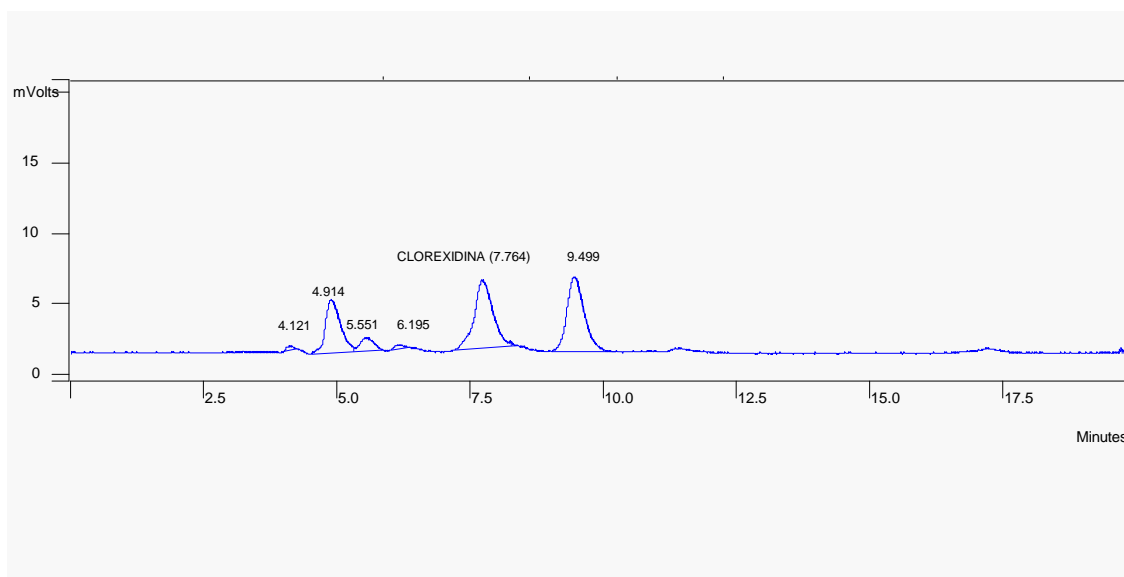


FIGURA 19 - CROMATOGRAMA DA SUSPENSÃO DE CARBONATO DE CÁLCIO E METILPARABENO

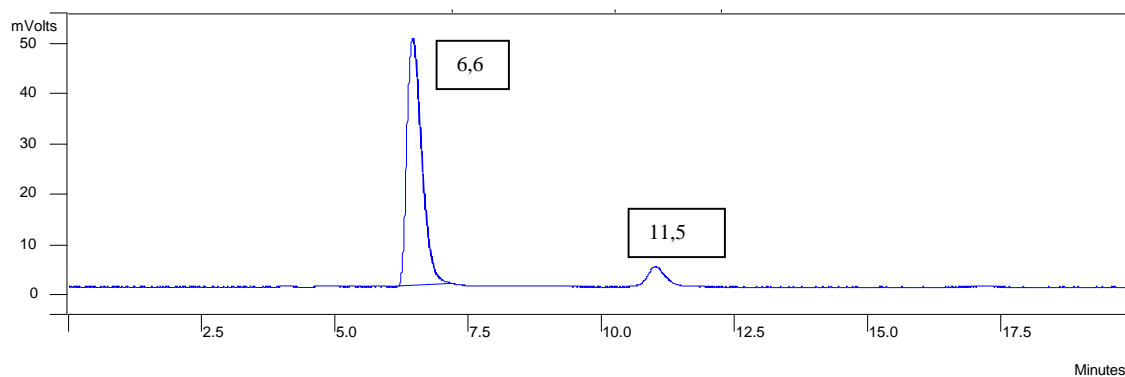


FIGURA 20 - CROMATOGRAMA DA SUSPENSÃO DE CARBONATO DE CÁLCIO, CLOREXIDINA E METILPARABENO

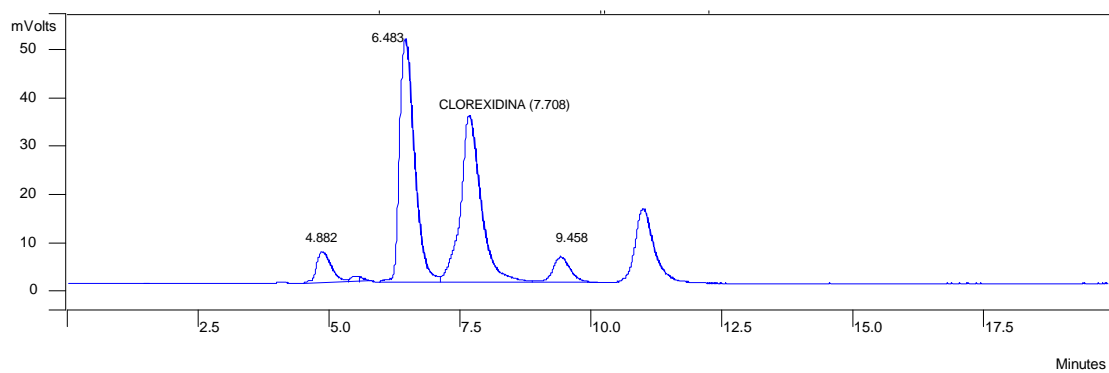
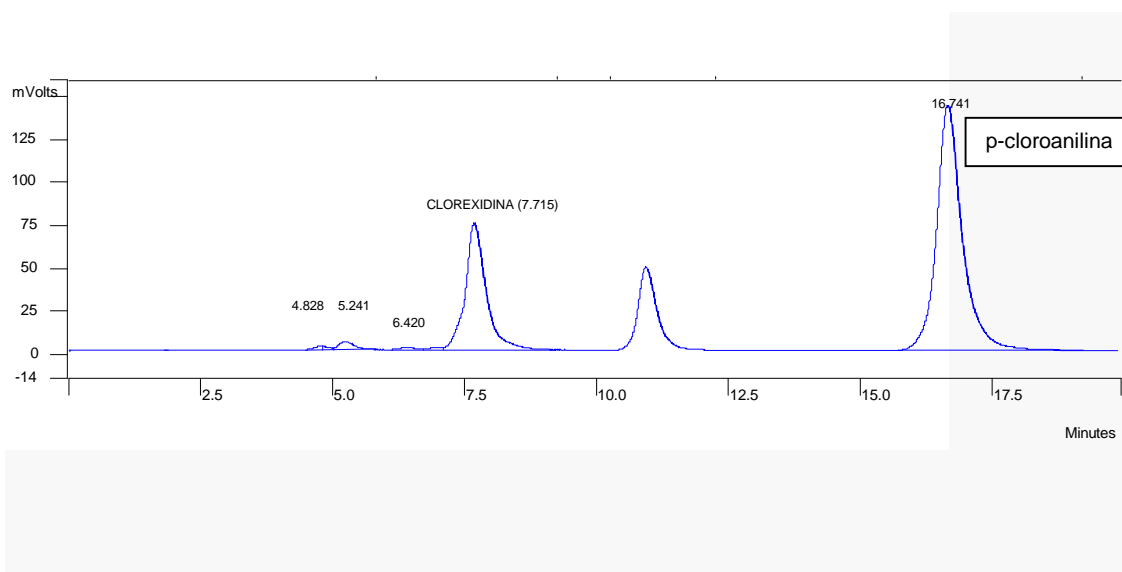


FIGURA 21 – CROMATOGRAMA DA PASTA DENTIFRÍCIA ADICIONADA COM p-CLOROANILINA



No cromatograma da pasta sem sacarina (01), da pasta sem essência (02) e da pasta sem sacarina e sem essência (03), observa-se as mesmas alterações do comportamento encontrado nos cromatogramas do T3, com a mesma redução do pico de clorexidina e metilparabeno e o aparecimento de novos picos, o que evidencia que as essências e a sacarina parecem não ser o fator responsável pela instabilidade do sistema.

Analisando-se o cromatograma apresentado na figura 18, cuja composição continha apenas clorexidina com carbonato de cálcio, pode-se observar o aparecimento de um pico em $t_r = 4,9$ min e outro pico em $t_r = 9,5$ min, semelhantes aos picos encontrados no ensaio preliminar de estabilidade, no T3, o que evidencia que tal alteração pode estar relacionada à presença do carbonato de cálcio ou ao pH da formulação determinado por esse componente.

No cromatograma apresentado na figura 19, cuja composição era carbonato de cálcio com metilparabeno, observou-se também um pico em $t_r = 11,5$ min correspondente ao pico do metilparabeno, e um pico em $t_r = 6,6$ min, que parece ser um produto de degradação deste componente. Estes picos são semelhantes aos encontrados no ensaio preliminar de estabilidade, no T3.

Analisando-se o cromatograma da figura 20, cuja composição era carbonato de cálcio, clorexidina e metilparabeno, e comparando-se com os

anteriores, constata-se a presença dos picos relativos à clorexidina ($t_r=7,7$ min), ao metilparabeno ($t_r= 11$ min), e também observa-se os picos com $t_r= 4,4$ min e $t_r=9,4$ min, possivelmente relacionados a produtos de degradação da clorexidina e $t_r=6,8$ min, possivelmente relacionados aos produtos de degradação do metilparabeno.

O cromatograma apresentado na figura 21 mostra que o padrão de p-Cloroanilina, incorporado à pasta dentifrícia, originou um pico com um tempo de retenção de $t_r=16,7$ min, tempo esse bem diferente daqueles dos possíveis picos dos produtos de degradação apresentados nos cromatogramas do T3, o que evidencia que nenhum deles corresponde à substância p-Cloroanilina.

Com estes estudos, fica evidente que o carbonato de cálcio é o fator responsável pela instabilidade química da pasta dentifrícia, possivelmente porque o mesmo determina um pH acima de 7, e sendo o metilparabeno um éster, ele é susceptível à hidrólise alcalina, bem como a clorexidina, que é uma biguanida, também é vulnerável a ataques por nucleófilos, o que é favorecido em pH alcalino.

Tendo em vista a importância do carbonato de cálcio como abrasivo na pasta dentifrícia, deve-se propor um tamponamento com o acréscimo de fosfato tricálcico ao carbonato de cálcio, ou substituí-lo totalmente pelo fosfato tricálcico.

8 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, as seguintes conclusões podem ser citadas:

- O método desenvolvido para o doseamento da clorexidina por CLAE mostrou-se adequado para a quantificação da clorexidina tanto na matéria-prima quanto na formulação e satisfaz os critérios de linearidade, especificidade, exatidão e precisão conforme exigido para essa categoria de método analítico.
- As formulações dentifrícias desenvolvidas atendem satisfatoriamente as especificações para esta classe de produtos quanto aos parâmetros pH, densidade, consistência, viscosidade, propriedades reológicas e características organolépticas bem como os seus componentes não interferiram na atividade antimicrobiana da clorexidina.
- Nas condições em que foi realizado o estudo de estabilidade, as formulações mostraram-se estáveis sob o ponto de vista físico-químico, ou seja, as características analisadas mantiveram-se iguais às especificações (T0) por um período de apenas dois meses, sendo que o carbonato de cálcio parece ser o fator responsável pela instabilidade da clorexidina e do metilparabeno na formulação, o qual deve ser substituído por um outro abrasivo cujo pH da formulação fique próximo da neutralidade.
- Observou-se também que não há diferença significativa quanto à estabilidade da formulação em relação aos diferentes tipos de embalagem utilizados, o que se pode supor que as alterações ocorridas não são influenciadas pela permeabilidade das embalagens ou pelas suas características químicas.

9 REFERÊNCIAS

ABO, Associação Brasileira de Odontologia, norma n.º 1 dentifrício, 1999.

ARANTES, A. B. **Desenvolvimento de dentifrícios com extratos fluídos de *Calendula officinalis* L., (Asteraceae) e *Casearia sylvestris* Sw., (Flacourtiaceae), destinado ao tratamento de periodontias.** Curitiba, 2002.93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria nº 35 de 11/10/1990.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC n.º 79 de 28/08/2000.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 10 de 02/01/2001.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC n.º 162 de 11/09/2001.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 560 de 02/04/2002.

BASSIOUNY, M. A.; GRANT, A. A. The toothbrush application of chlorhexidine – A Clinical Trial. **Brit. Dent. J.**, 139, p.323-327, 1975.

BONESVOLL, P.; LÖKKEN, P.; RÖLLA, G. Influence of concentration, time, temperature and pH on the retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. **Archs Oral Biol**, Great Britain, v. 19, p 1025-1029,1974.

BOWDEN, G.H. Mutans Streptococci Caries and Chlorhexidine. **J. Can. Dent. Assoc.**, v.62,f.9, p.700-707,1996.

BRINER, W.W. et al. Assessment of susceptibility of plaque bacteria to chlorhexidine after six months' oral use. **Journal of Periodontal Research**, Supplement, p.53-59, 1986.

BURNETT, G. W.; SCHERP, B. S.; SCHUSTER, G. S. **Microbiologia oral e doenças infecciosas**. 4. Ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1991, p. 214-222.

CALFIELD, P. W.; NAVIA, J. M. **Agentes antimicrobianos na profilaxia das cáries - Bases biológicas**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1984, p. 340-367.

CAMPOS, N. P. **Otimização do processo de produção de Hidroclorotiazida 25mg com validação da metodologia analítica**. Rio de Janeiro, 2003. 141 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

CARRANZA JR, F. A. **Periodontia Clínica**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. p. 17-19.

CARRANZA JR, F. A.; NEWMAN, M. G. **Periodontia Clínica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

CAUDURO NETO, R. Estudo comparativo entre agentes químicos antiplaca: avaliação das pesquisas. **RGO**, v. 1, p.55-63, 1978.

CASS, Q.B.; DEGANI, A.L.G. Desenvolvimento de Métodos por HPLC – Fundamentos, Estratégias e Validação. **Série Apontamentos da UFSCar**, São Carlos, p. 1-77, 2001.

CHASIN, A. A. M. et al. Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral. **Rev. Bras. de Toxicol.**, v.1, n.1, p. 1-6, 1998.

CURY, J.A. et al. Effect of Saccharin on Antibacterial Activity of Chlorhexidine Gel. **Braz Dent J**, v. 11, f. 1, p.29-34, 2000.

DENARDI, B. B. O uso da clorexidina na prática odontológica. **Revista da APCD**, v.48, f.2, p. 1279-1285, 1994.

FARDAL, O., TURNBULL, R.S. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 112, p.863-869, 1986.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FEIST, I. S.; MICHELI, G.; SARIAN, R. Clorexidina – Os prós e os contras da sua utilização em periodontia. **Revista da APCD**, v.43, f.1, p.20-23, 1989.

FLÖTRA, L. Different modes of clorexidine application and related local side effects. **J Periodontal Res**, v. 8, Suppl.12, p. 41-44, 1973.

GIOSO, M. A. **Afecções Periodontais**. Disponível em: <http://www.geocities.com/CollegePark/Classroom/6137/textperi.html> Acesso em: 05 nov. 2003.

GJERMO, P. A clorhexidina na Prática Odontológica. **RGO**, v. 26, f. 1, p.22-26, 1978

GJERMO, P.; ROLLA, G. Plaque inhibition by antibacterial dentifrices. **Scand J Dent Res**, v. 78, p. 464-470, 1970.

GJERMO, P.; BONESVOLL, P.; HJELJORD, L.G.; ROLLA, G. Influence of variation of pH of clorexidine mouthrinses on oral retention and plaque inhibiting effect. **Caries Res.**, Basel, v.9, p. 74-82, 1975.

HARRY, R. G. **Cosmetología de Harry**. Madrid: Ediciones Díaz de Santos, S.A., 1990.

HENNESSEY, T. D. Some antibacterial properties of chlorhexidine. **J. Peiodont. Res.**,v.8, Suppl.12, p.61-67, 1973.

HUGO, W. B.; LONGWORTH, A. R. Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. **J. Pharm. Pharmacol.**, n. 16, p.655-662, 1964.

ICH Q1A – International Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use. **Stability testing of new drug substances and products**. Geneva, oct. 1993.

ICH Q1A(R) – International Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use. **Stability testing of new drug substances and products. Revised guideline** Geneva, oct. 1999.

ICH Q2A – International Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use. **Text on validation of analytical procedures.** Geneva, mar. 1995.

ICH Q2B – International Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use. **Validation of Analytical Procedures: Methodology.** Geneva, nov. 1996.

JORGE, A. O. C. **Microbiologia Bucal.** 1 ed. São Paulo: Livraria Santos Editora, 1995.

LACAZ NETTO, R. et al. Controle da Placa Dentária. **RGO**, v.35, f.4, p.259-263, 1987.

LARA, E.H.; PANZERI, H. A propósito de uma regulamentação para produtos de higiene oral. **Normas para controle de qualidade de dentifrícios da A.B.O. Associação Brasileira de Odontologia**), 1994.

LASCALA, N. T..**Periodontia clínica: especialidades afins.** São Paulo: Artes Médicas, 1980.

LEITE, F. **Validação em análise química.** 4 ed. Campinas: Editora Átomo, 2002.

LINDHE, J. **Tratado de Periodontologia Clínica.** 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1992.

LÖE, H. Chlorhexidine in the prophylaxis of dental diseases. **J. Periodont. Res.**, v. 8, Suppl. 12, p. 5-6, 1973.

LÖE, H. Does Chlorhexidine have a place in the prophylaxis of dental diseases? **J. Periodont. Res.**, v.8, Suppl. 12 p. 93-99, 1973.

LÖE, H et al. Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. **J Periodont Res.**, v.11, p.135-144, 1976.

LÖE, H. Controle de Placa na Doença Periodontal. **RGO**, v.26, f.1, p.28-30, 1978.

MANUAL DE SANEANTES. Fundação Instituto Osvaldo Cruz / Instituto Nacional de Controle de Qualidade de Saneantes. Rio de Janeiro, 1992.

MEDEIROS, U. V.; COIMBRA, M. E. R. Estudo experimental da concentração de flúor presente em dentifrícios encontrados no mercado. **Ver. Bras. De Odontol.**, v. 57, p. 42-49, 2000.

MORETTO, L. D.; MOOKHERJEA, S. A era da validação. **Pharmaceutical Technology**, p.44-48, agosto 2000.

NEWBRUN, E. **Cariologia**. 2. Ed. São Paulo: Santos, p. 17-154, 1990.

NORBRO, H. Discoloration of human teeth by a combination of chlorexidine and aldehydes or ketones in vitro. **Scand. J. Dent. Res.**, v. 79, f. 5, p. 356-61, 1971.

NUNES, J. **Desenvolvimento de dentifrícios específicos para diferentes faixas etárias**. São Paulo, 1996. 155p. Tese (Doutorado em Fármacos e Medicamentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

PADER, M. **Oral Higiene Products and Practice**. 1. Ed. New York: Marcel Dekker, p. 419-487, 1988.

PADER, M. Dentifrice Rheology. In: LABA, D. **Reological properties of cosmetics and toiletries**. New York: Marcel Dekker, 1993, p. 247-273.

PANZERI, H. et al. Avaliação de dentifrícios I parte - Consistência, densidade, pH, vida útil e perda de água. **Odontologo Mod.**, v.4, f.2, p.4-12, 1979.

PEDRAZZI, V.; LARA, E. H. G.; PANZERI, H. Sílica em dentifrícios: Aspectos físico e físico-químicos. **Cosmet. Toiletries**, v. 11, p. 66-69, 1999.

PINHEIRO, C. E. et al. Goma de mascar contendo Clorhexidina. **RGO**, n.33, f.1, p.67-70, 1985.

PIOCHI, B.J. A microbiota da cavidade bucal. In: LASCALA, N. T.; MOUSSALLI, N. H.. **Compêndio Terapêutico Periodontal**. São Paulo: Artes Médicas, 1994. p.263-265.

POZZOBON, R. T.; BANDEIRA, M. F. C. L.; PIZZOLITTO, A. C. Análise comparativa da ação antibacteriana de diferentes agentes clareadores e soluções anti-sépticas. **Revista Dentística on line**, v.1. Disponível em <http://www.ufsm.br/dentisticaonline> Acesso em: 09 dez. 2002.

PRISTA, L. N.; BAHIA, M. F.; VILAR, E. **Dermofarmácia e cosmética**. Porto: Associação Nacional de Farmácia, p. 503-551, 1995.

REBELLO, T. F. S. Tensoativos com ação antimicrobiana. **Cosmet. Toiletries**, v. 13, p. 38, 2001.

ROSENBERG, M. M. **Tratamento Periodontal e Protético para casos avançados**. Rio de Janeiro: Quintessence books, 1992.

ROSING, C. K.; TOLEDO, B. E. C. Controle químico da placa bacteriana: utilização clínica da clorexidina em Periodontia. **Periodontia**, v.1, f.2, p.56-58, 1993.

RUSSEL, B. G.; BAY, L. M. Oral use of chlorhexidine gluconate toothpaste in epileptic children. **Scand J Dent Res**, v.86, n.1, p.52-57, 1978.

SCHIOTT, C. R.; BRINER, W. W.; LÖE, H. Two years oral use of chlorhexidine in man. II. The effect on the salivary bacterial flora. **J. Periodontal Res.**, v.11,p.145-152, 1976.

SCHIOTT, C. R. et al. Two years oral use of chlorhexidine in man. III. Changes in sensitivity of the salivary flora. **J Periodontal Res.**, v.11, p. 153-157, 1976.

SEERIG, L. M.; ZANON, G. B.; ANZILIERO, L. Avaliação da efetividade da clorexidina no controle químico da placa bacteriana. **Revista Dentística on line**, v.7. Disponível em <http://www.ufsm.br/dentisticaonline/art7-clorexedine.html> Acesso em: 22 abr. 2003.

SINNES, E. P. et al. Controle químico da placa bacteriana. In: LASCALA, N. T.. **Prevenção na Clínica Odontológica: promoção da saúde bucal**. São Paulo: Artes Médicas, 1997, 174-185.

THE UNITED States Pharmacopeia. 23. ed. Rockville: United Stated Pharmacopeial Convention. 1995.

THE UNITED States Pharmacopeia. 24. ed. Rockville: United Stated Pharmacopeial Convention. 2000.

THE UNITED States Pharmacopeia. 25. ed. Rockville: United Stated Pharmacopeial Convention. 2002.

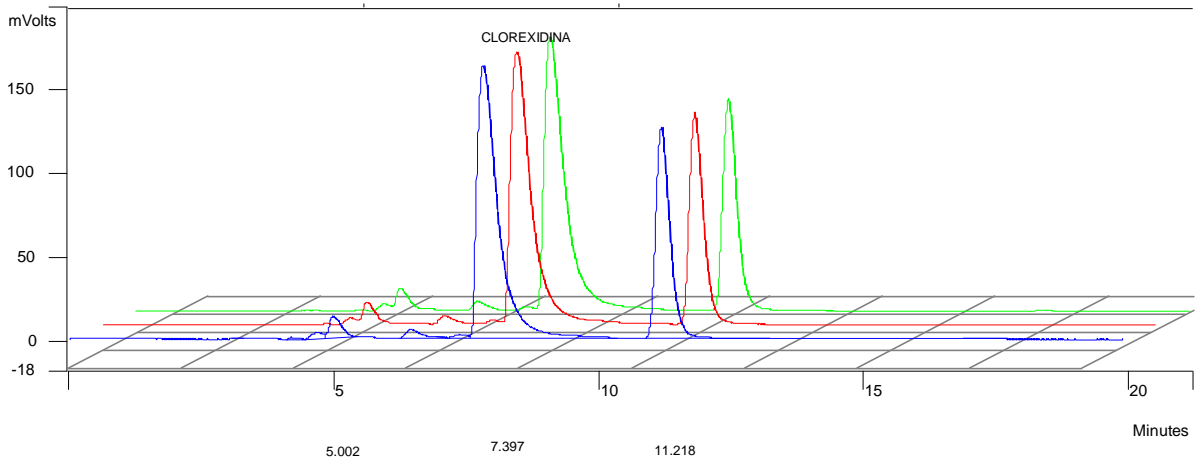
TORRES, C. R. G. et al. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na Odontologia. **Pós-Grad Ver Fac Odontol São José dos Campos**, v.3, f.2, p.43-52, 2000.

USP 23 – DI. Drug Information for the Health Care Professional. – **United States Pharmacopeia**, 23 ed., Thomson Micromedex, p.786-788, 2003.

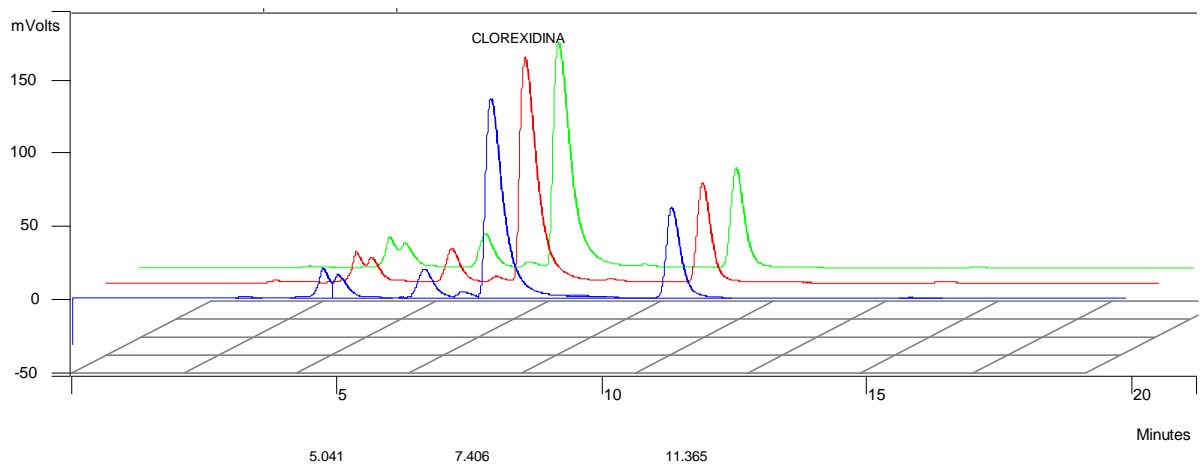
WITT, A. O uso da clorexidina em periodontia. **R G O**, v.26, f.1, p.16-19, 1978.

10 ANEXOS

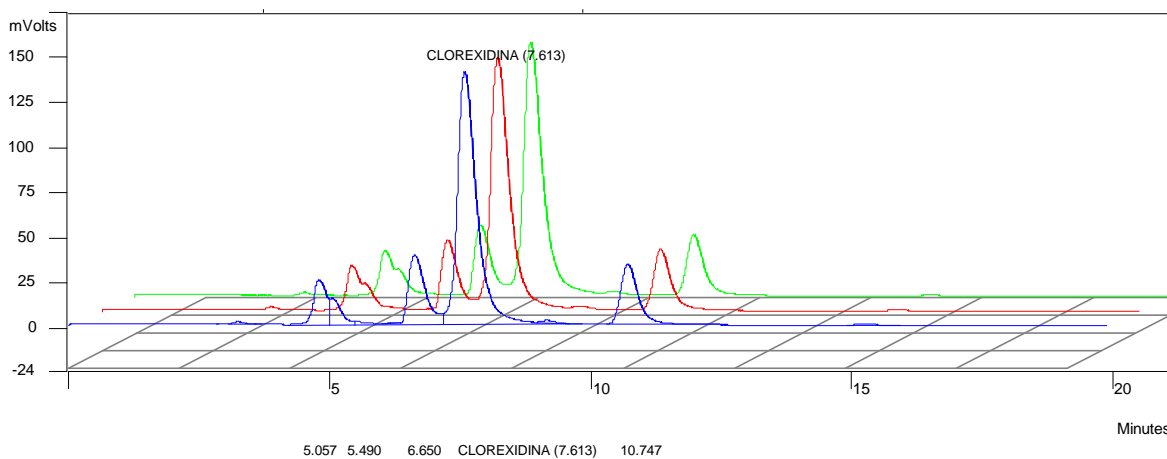
10.1 Cromatograma da pasta pediátrica na embalagem de alumínio no T0



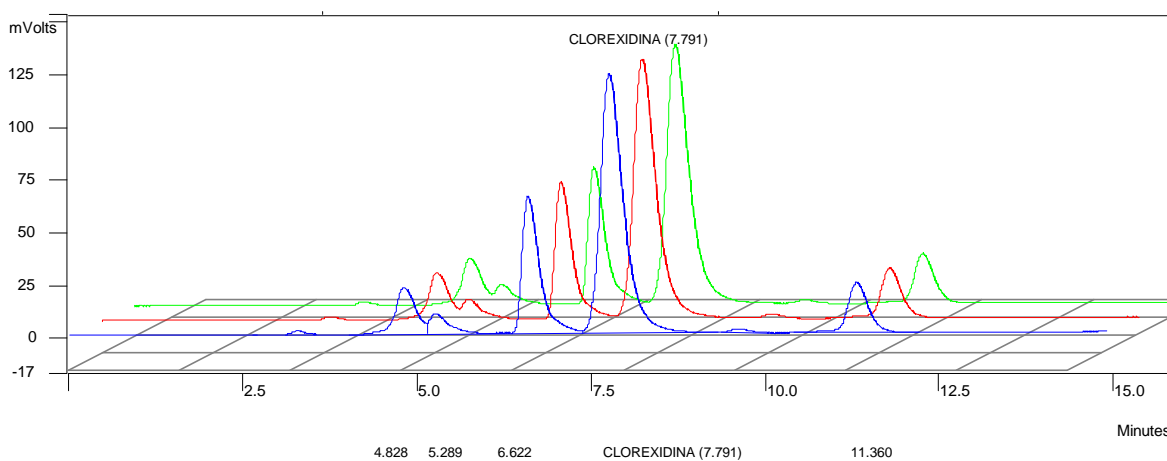
10.2 Cromatograma da pasta pediátrica na embalagem de alumínio no T1



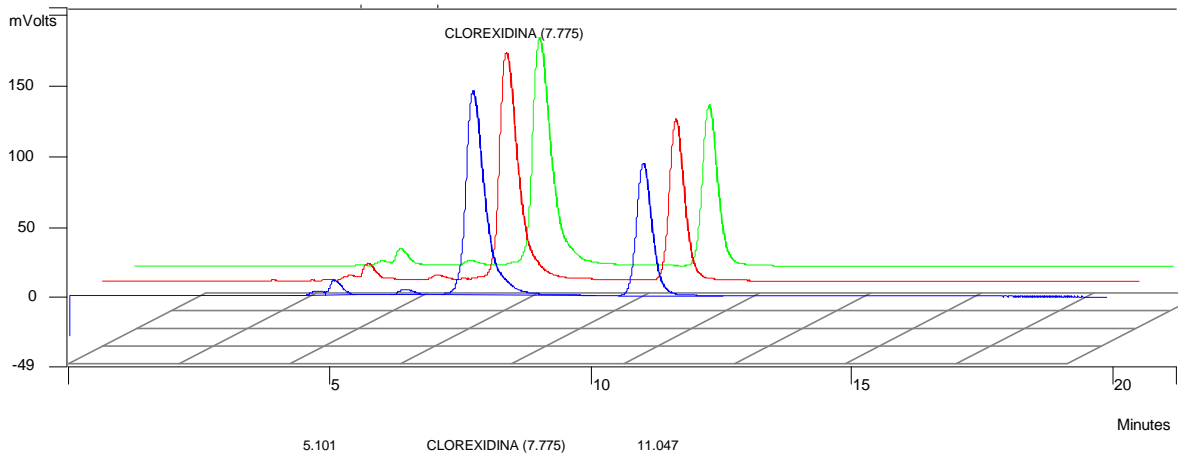
10.3 Cromatograma da pasta pediátrica na embalagem de alumínio no T2



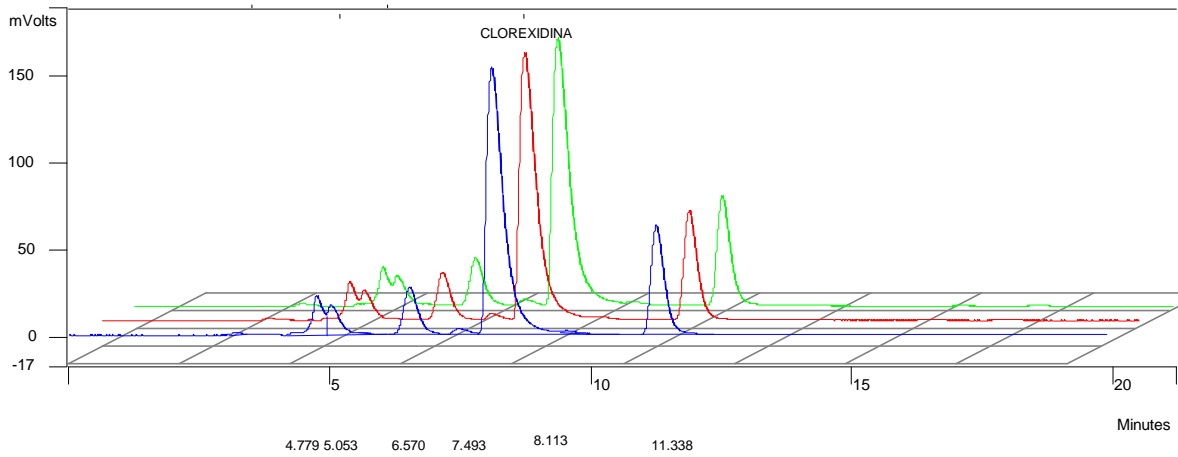
10.4 Cromatograma da pasta pediátrica na embalagem de alumínio no T3



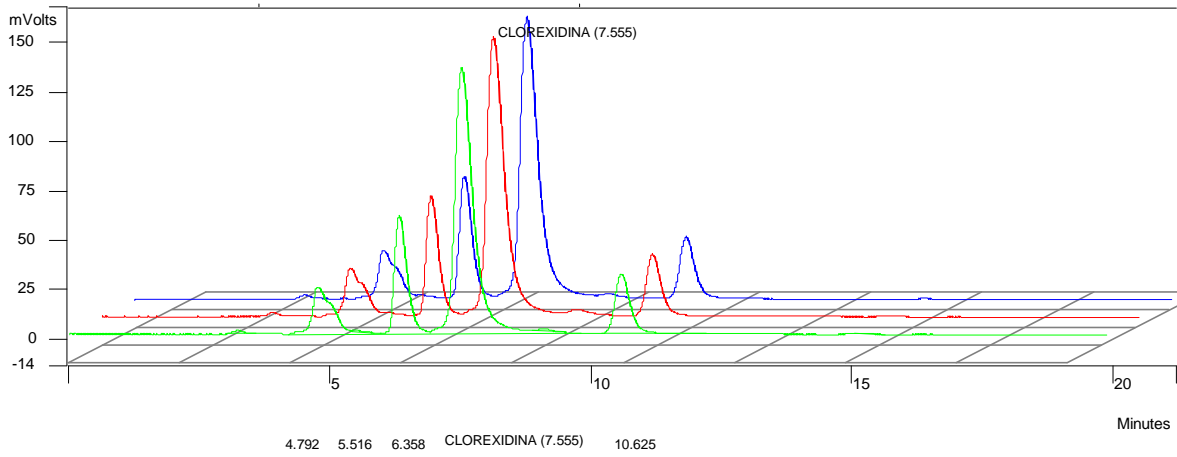
10.5 Cromatograma da pasta pediátrica na embalagem plástica no T0



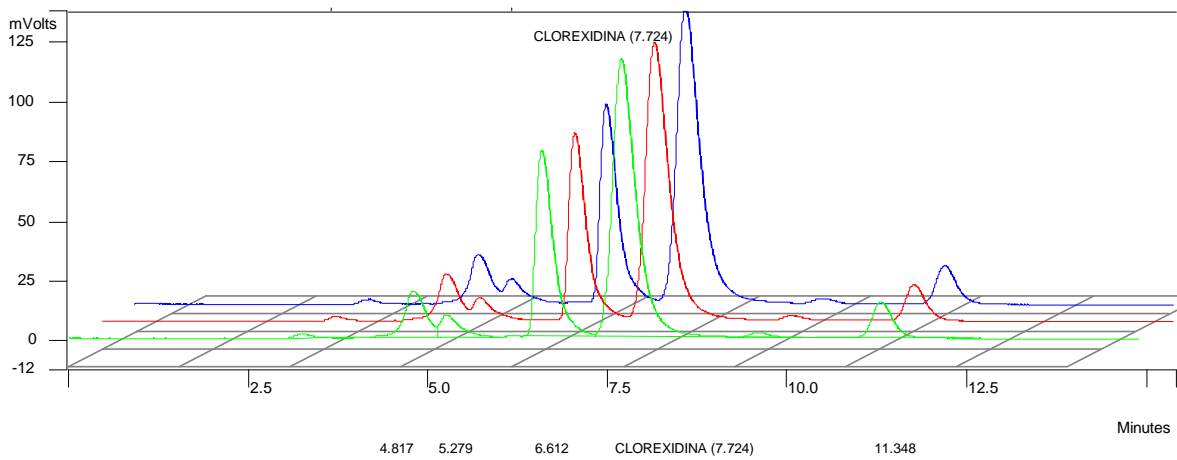
10.6 Cromatograma da pasta pediátrica na embalagem plástica no T1



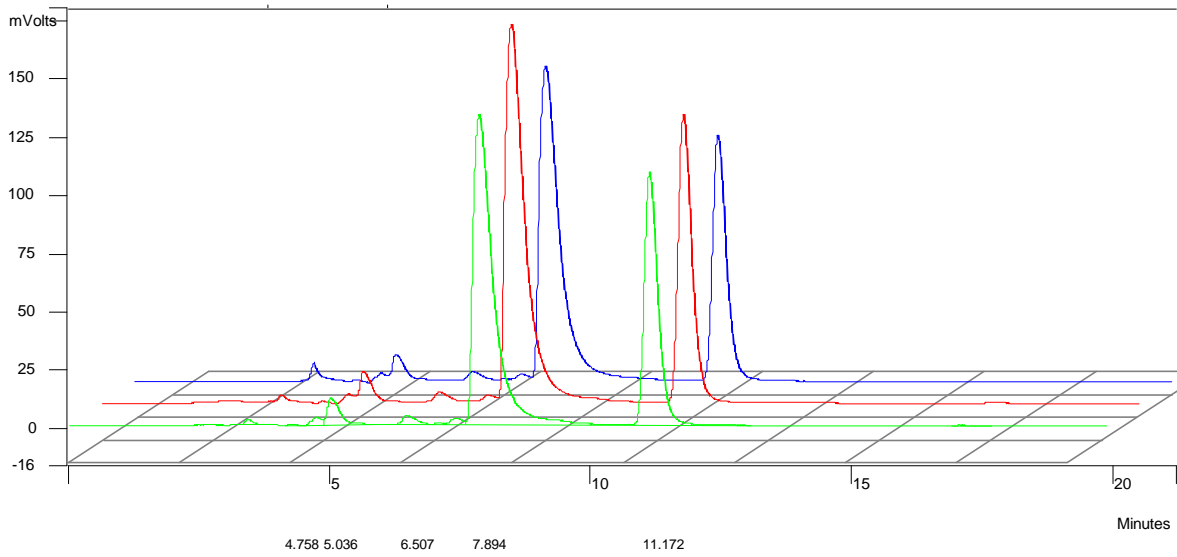
10.7 Cromatograma da pasta pediátrica na embalagem plástica no T2



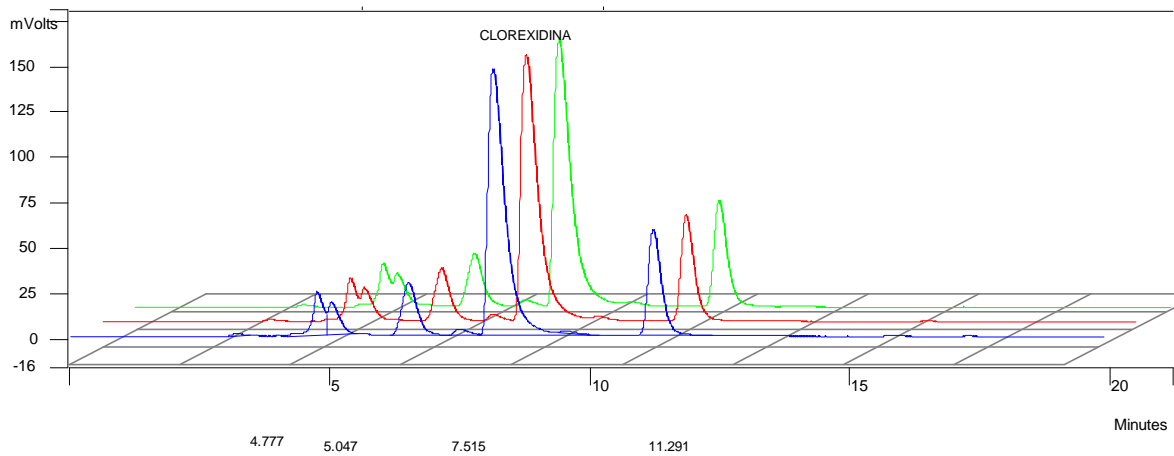
10.8 Cromatograma da pasta pediátrica na embalagem plástica no T3



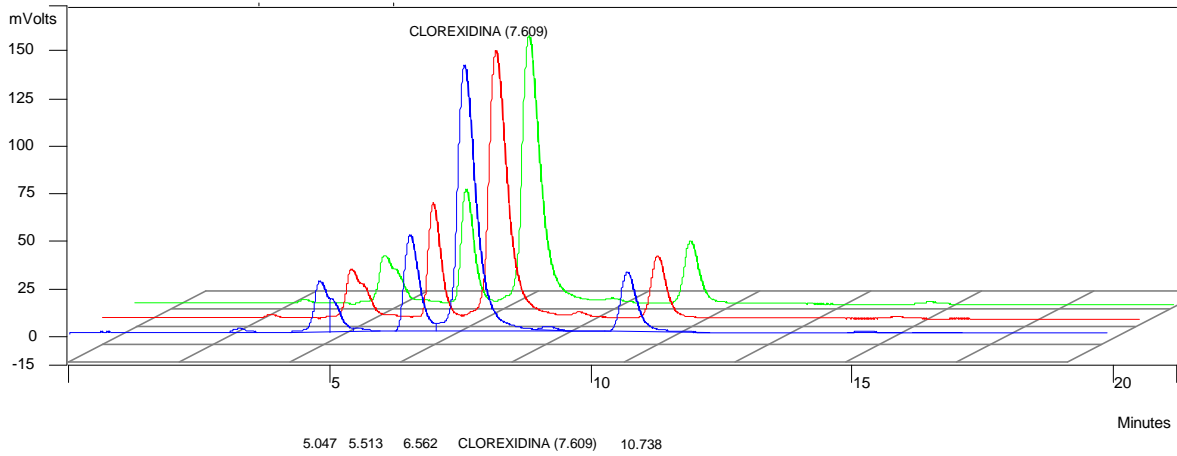
10.9 Cromatograma da pasta para adulto na embalagem de alumínio no T0



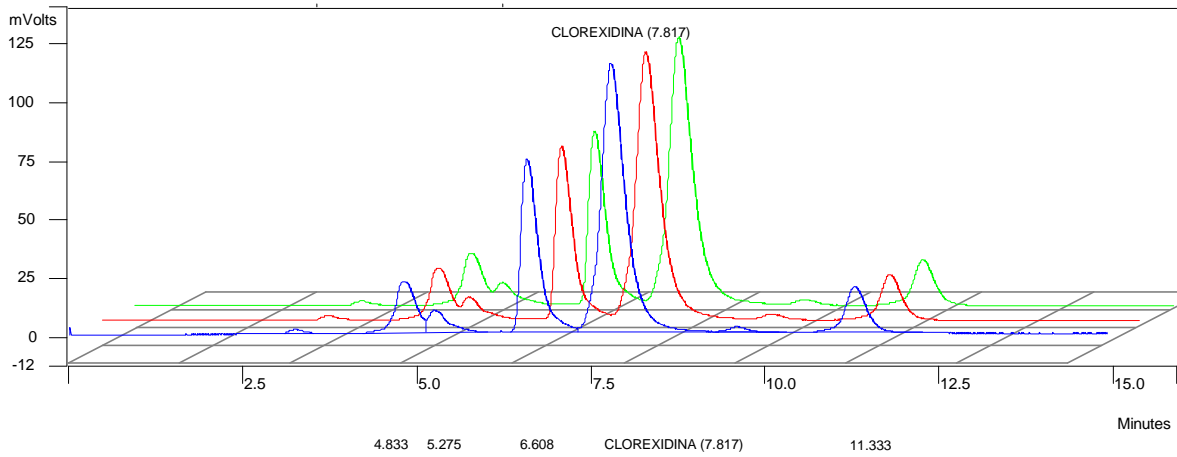
10.10 Cromatograma da pasta para adulto na embalagem de alumínio no T1



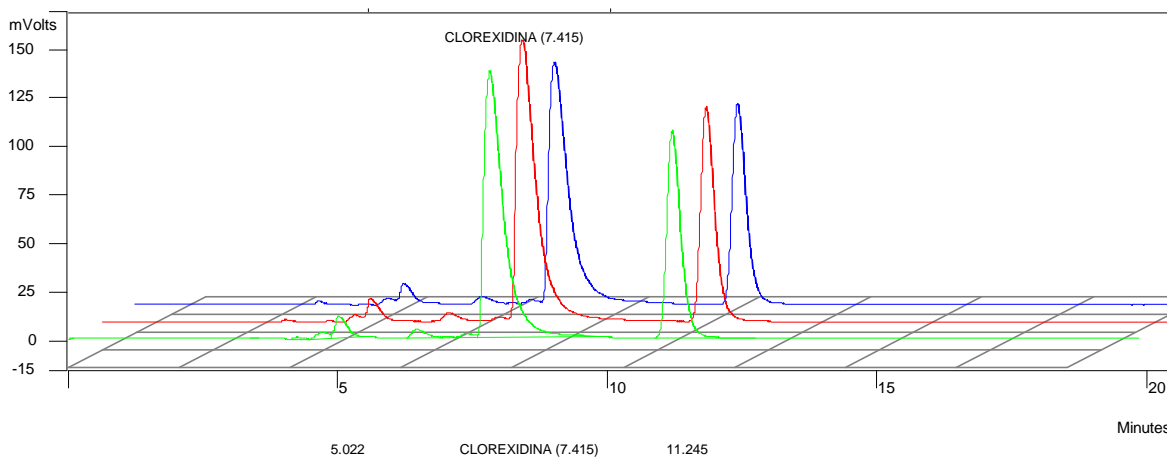
10.11 Cromatograma da pasta para adulto na embalagem de alumínio no T2



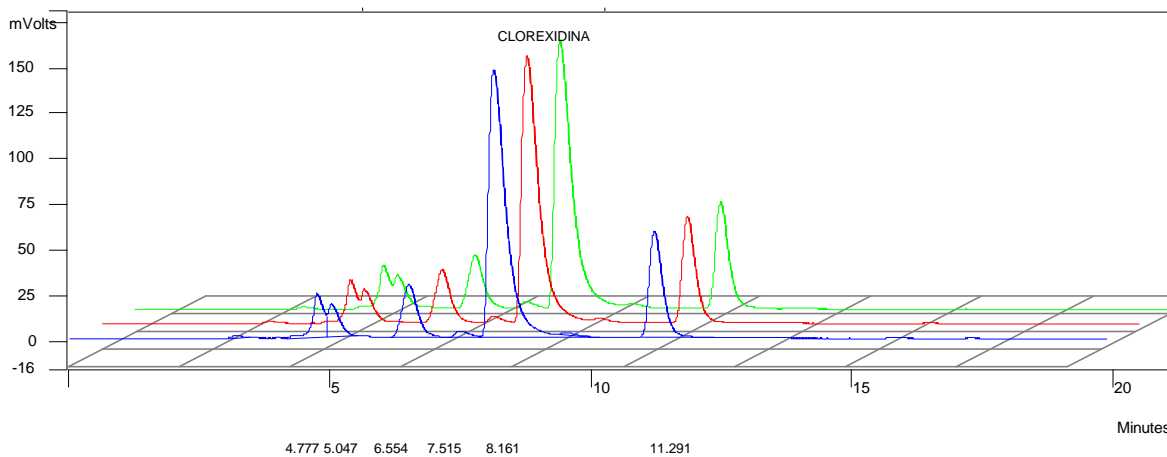
10.12 Cromatograma da pasta para adulto na embalagem de alumínio no T3



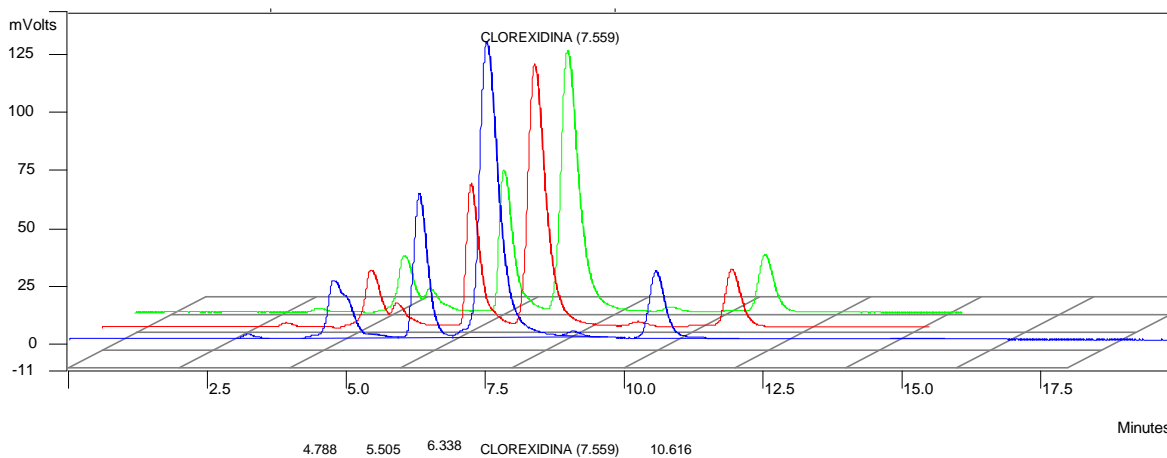
10.13 Cromatograma da pasta para adulto na embalagem plástica no T0



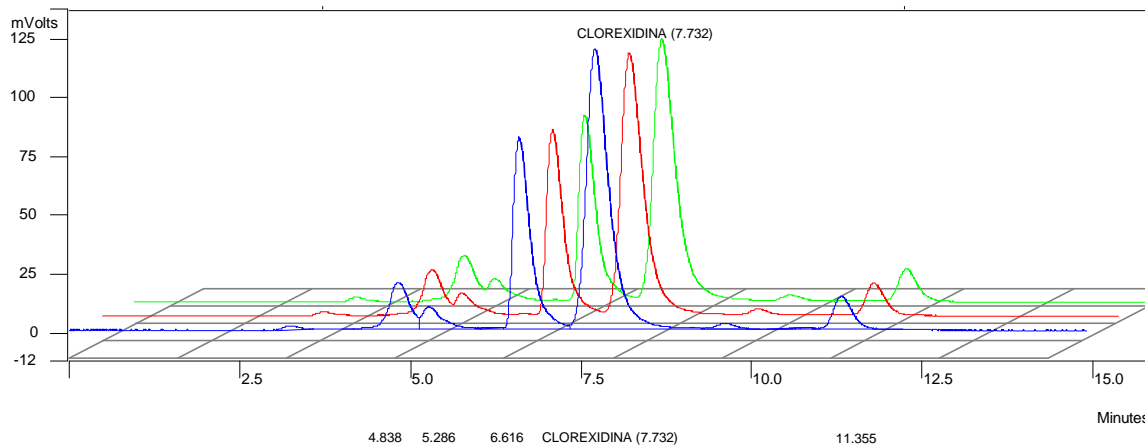
10.14 Cromatograma da pasta para adulto na embalagem plástica no T1



10.15 Cromatograma da pasta para adulto na embalagem plástica no T2



10.16 Cromatograma da pasta para adulto na embalagem plástica no T3



10.17 Halos de inibição do crescimento do *Staphylococcus aureus* frente à pasta dentifírcia para adulto na embalagem plástica no T0



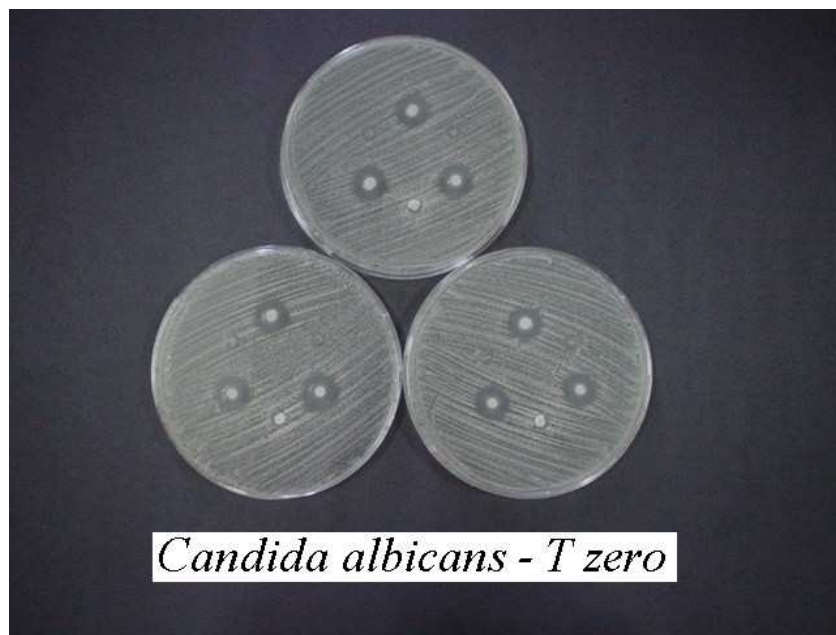
10.18 Halos de inibição do crescimento do *Staphylococcus epidermidis* frente à pasta dentifírcia para adulto na embalagem plástica no T0



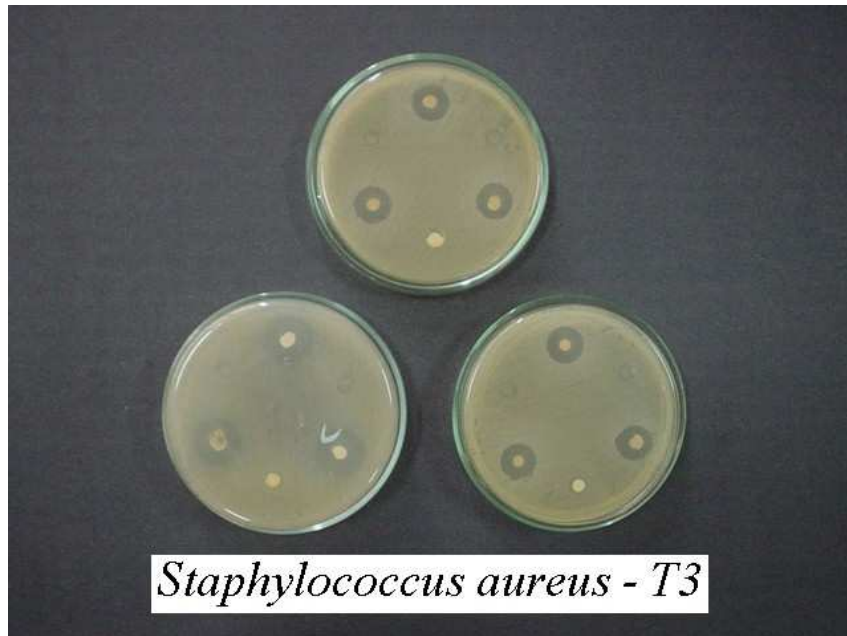
10.19 Halos de inibição do crescimento do *Streptococcus mutans* frente à pasta dentifírcia para adulto na embalagem plástica no T0



10.20 Halos de inibição do crescimento de *Cândida albicans* frente à pasta dentifírcia para adulto na embalagem plástica no T0



10.21 Halos de inibição do crescimento do *Staphylococcus aureus* frente à pasta dentifrícia para adulto na embalagem plástica no T3



10.22 Halos de inibição do crescimento do *Staphylococcus epidermidis* frente à pasta dentifrícia para adulto na embalagem plástica no T3



10.23 Halos de inibição do crescimento do *Streptococcus mutans* frente à pasta dentifírcia para adulto na embalagem plástica no T3



10.24. Halos de inibição do crescimento da *Cândida albicans* frente à pasta dentifírcia para adulto na embalagem plástica no T3

