

ATIVIDADE INIBITÓRIA DE DENTIFRÍCIOS SOBRE BACTÉRIAS ANFIBIÓNTICAS DA CAVIDADE BUCAL

Elerson GAETTI-JARDIM JÚNIOR*

Rogério Emílio de SOUZA**

Dalva Soares LAUTON**

Flávia MARIANO**

- **RESUMO:** Foi objetivo deste trabalho avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de nove dentifrícios nacionais e dois estrangeiros ante bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas. Utilizaram-se 5 cepas de *Streptococcus mutans*, 20 cepas de *Fusobacterium nucleatum*, e 10 cepas de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Os testes de suscetibilidade foram realizados pelo método de diluição em ágar. As placas contendo ágar infuso de cérebro coração, suplementadas com extrato de levedura e acrescidas de 0,5 mg/mL a 128 mg/mL do dentifrício a ser testado, foram inoculadas com as cepas bacterianas e incubadas a 37°C, por 48 horas, em condições de anaerobiose. Verificou-se que todos os dentifrícios possuem atividade antimicrobiana, mas os que se mostraram mais eficazes possuíam triclosan em sua composição.
- **PALAVRAS-CHAVE:** Dentifrícios; cárie dentária; doença periodontal, atividade antimicrobiana.

Introdução

A prevenção da cárie dentária e da doença periodontal ainda constitui um grande desafio à Odontologia, uma vez que 20% dos brasileiros

* Departamento de Patologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 16015-050 – Araçatuba – SP.

** Cirurgiões-dentistas – Faculdade de Odontologia – UNESP – 16015-050 – Araçatuba – SP.

com 35 anos de idade não possuem dentes naturais e, aos 55 anos, metade da população se encontra nesta condição, ao passo que os demais apresentam cáries e doença periodontal em níveis variados.⁴⁵ As doenças periodontais e a cárie dental resultam da colonização da superfície dos tecidos periodontais e dentais por espécies bacterianas particulares, em um ambiente que favorece a expressão dos seus genes de virulência no hospedeiro suscetível.^{19,39,40}

Dentre as bactérias autóctones da cavidade bucal, *Streptococcus mutans* é o principal microrganismo envolvido na cárie dental, quer pela sua capacidade de aderir à superfície do esmalte, sintetizar complexos polímeros de carboidratos extra e intracelulares, como também pela sua acidogenicidade e aciduridade, notadamente na presença de sacarose como carboidrato fermentável.¹⁹

A etiologia das diferentes entidades clínicas de doença periodontal envolve a participação de várias espécies microbianas, particularmente microrganismos Gram negativos anaeróbios, como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, espiroquetas e *Fusobacterium nucleatum*, além do microaerófilo *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.^{7,20,39} Dentre os bastonetes anaeróbios envolvidos nas doenças periodontais, *F. nucleatum* é a espécie bacteriana mais freqüentemente isolada de todas as modalidades de periodontopatias¹² e *A. actinomycetemcomitans* é associada às periodontites de início precoce e periodontite do adulto.²³

Com a finalidade de prevenção e controle da cárie e periodontopatias, numerosos métodos foram preconizados, ganhando popularidade o uso de métodos mecânicos para higienização da cavidade bucal, como escova, fio ou fita dental. O emprego de dentifrícios pode auxiliar na remoção mecânica ou desorganização da placa bacteriana, bem como veicular compostos químicos bactericidas ou bacteriostáticos capazes de inibir ou controlar a formação da placa supra e subgingival, prevenindo assim a ocorrência da cárie e doenças periodontais,^{32,46} minimizando as falhas associadas ao uso incorreto da escovação.²⁸

A existência de placas bacterianas específicas, associadas à cárie dental e periodontopatias permite a inclusão, na composição dos dentifrícios, de compostos com atividade antimicrobiana, especialmente antissépticos, extratos de ervas, enzimas, íons metálicos e fluoretos, dentre outros.^{34, 35}

Considerando o papel desempenhado pelos dentifrícios como veículos de compostos antimicrobianos na prevenção da cárie e da doença periodontal, foi objetivo deste trabalho avaliar, *in vitro*, a atividade anti-

microbiana de nove dentifrícios nacionais e dois estrangeiros ante cepas de *Streptococcus mutans*, *Fusobacterium nucleatum* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Material e método

Dentifrícios

Os dentifrícios estudados são mostrados na Tabela 1, com os respectivos ingredientes com atividade antimicrobiana fornecidos pelo fabricante ou descritos na literatura.^{24,26}

Os dentifrícios Colgate Total, Kolynos Ação Total e Signal Ação Global apresentam, ainda, em sua composição, um copolímero de metoxietileno e ácido maleico, conhecido como Gantrez. Esse composto não apresenta atividade antimicrobiana, mas é capaz de aumentar a substantividade, ou biodisponibilidade, do triclosan na cavidade bucal, aumentando o tempo de ação deste composto fenólico.⁴⁴

Tabela 1 – Dentifrícios testados e seus respectivos componentes com atividade antimicrobiana

Dentifrícios (marca comercial)	Componente com atividade antimicrobiana	Concentração de flúor
AQUAFRESH	Monofluorofosfato de sódio Lauril sulfato de sódio	1.100 ppm
CLOSE UP	Monofluorofosfato de sódio Mentol Lauril sulfato de sódio	1.000 ppm
COLGATE BICARBONATO DE SÓDIO	Monofluorofosfato de sódio Lauril sulfato de sódio	1.450 ppm
COLGATE Menta MFP Ca ⁺²	Monofluorofosfato de sódio Lauril sulfato de sódio	1.450 ppm
COLGATE TOTAL	Monofluorofosfato de sódio 2, 4, 4' - Tricloro 2' - hidroxifeniléter* Citrato de zinco Lauril sulfato de sódio	1.500 ppm

Continuação

Dentífrícios (marca comercial)	Componente com atividade antimicrobiana	Concentração de flúor
CREST	Fluoreto de sódio	1.100 ppm
	Lauril sulfato de sódio	
KOLYNOS AÇÃO TOTAL	Fluoreto de sódio	1.100 ppm
	2, 4, 4' - Tricloro 2' - hidroxifeniléter*	
	Citrato de zinco	
	Lauril sulfato de sódio	
KOLYNOS SUPER BRANCO	Monofluorofosfato de sódio	1.200 ppm
	Lauril sulfato de sódio	
ORAL B Dentes e Gengivas	Fluoreto de estanho	1.050 ppm
	Lauril sulfato de sódio	
	Citrato de zinco	
SIGNAL AÇÃO GLOBAL	Monofluorofosfato de sódio	1.500 ppm
	2, 4, 4' - Tricloro 2' - hidroxifeniléter*	
	Citrato de zinco	
	Lauril sulfato de sódio	
TANDY	Fluoreto de sódio	1.100 ppm
	Lauril sulfato de sódio	

*Apresentado com a denominação de triclosan.

Soluções-estoques dos dentífrícios

As soluções-estoques de cada dentífrício foram preparadas em água destilada esterilizada, no mesmo dia do teste, e esterilizadas por filtração (filtros Millipore 0,22 μm). Alíquotas eram transferidas para os meios de cultivo para se atingir as concentrações desejadas (0,5 mg/mL até 128 mg/mL).

Cepas bacterianas

Streptococcus mutans

Foram utilizadas 5 cepas de *S. mutans* isoladas da superfície interproximal dos primeiros molares inferiores de cinco crianças com idade de 9 a 12 anos de idade, de acordo com metodologia utilizada por Simionato.³⁷ Tomou-se o cuidado de empregar um único isolado de

cada criança, para evitar que os testes subseqüentes fossem realizados com microrganismos geneticamente idênticos, o que poderia falsear os resultados.

As cepas de *S. mutans* foram identificadas de acordo com suas características morfocoloniais em ágar Mitis Salivarius Bacitracina, após 48 horas de incubação, a 37°C, em condições de microaerofilia, por suas características morfocelulares (método de Gram) e bioquímico-fisiológicas.¹³

Fusobacterium nucleatum* e *Actinobacillus actinomycescomitans

As cepas desses microrganismos foram obtidas de 26 pacientes, de ambos os sexos, com idade de 17 a 35 anos, que apresentavam sinais clínicos e radiográficos de doença periodontal e que não fizeram uso de antibioticoterapia nos 6 meses que precederam o estudo. Também tomou-se o cuidado de utilizar apenas um único isolado de cada paciente para a realização dos testes de suscetibilidade aos dentífricos.

A coleta dos espécimes clínicos e o isolamento dos microrganismos foram realizados de acordo com metodologia descrita por Slots.³⁸ Para o isolamento de *F. nucleatum* empregaram-se os meios seletivos CVE⁴³ e Omata & Disraely,³⁰ e para *A. actinomycescomitans* utilizou-se o meio seletivo TSBV.³⁸ As placas foram incubadas a 37°C, em anaerobiose, em dessecadores de vidro, pela técnica da mistura gasosa (90% N₂, 10% CO₂), por 4 dias. A identificação dos isolados foi realizada por suas características morfocoloniais, morfocelulares e bioquímico-fisiológicas.^{2,15,40}

As cepas de referência *Bacteroides fragilis* ATCC* 23745, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953 e ATCC 25586, foram cedidas pelo Prof. Dr. Mario Julio Avila-Campos (ICB-USP), a passo que *Streptococcus mutans* ATCC 25175 e *Streptococcus sanguis* ATCC 10556 foram cedidas pela Profa. Dra. Silvana Cai (ICB-USP).

Método de avaliação da atividade antimicrobiana, meio de cultura e inóculo

A concentração inibitória mínima dos dentífricos comerciais foi determinada empregando-se o método de diluição em ágar, descrito por Sutter et al.⁴¹ e sancionado pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards.²⁷ O meio de cultura utilizado foi o ágar infuso de cérebro

* ATCC – American Type Culture Collection.

coração – BHI ágar (Difco) enriquecido com 0,5% de extrato de levedura (Difco). Utilizou-se um inóculo final de 10^5 células/botão aproximadamente, o qual era transferido, em duplicata, para os meios de cultura com auxílio de um inoculador multialça.

Incubação e leitura dos resultados

As placas inoculadas, em duplicata, foram incubadas em jarras Gaspak, em condições de anaerobiose, a 37°C , por 48 horas. Como controle dos testes de suscetibilidade aos dentifrícios, foram empregadas as cepas de referência *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953 e ATCC 25586, *Bacteroides fragilis* ATCC 23745, *Streptococcus mutans* ATCC 25175 e *Streptococcus sanguis* ATCC 10556.

Em todos os testes, foram inoculados meios de cultura sem dentifrícios, no início e no final do processo de inoculação, para verificação da viabilidade celular bacteriana e contaminação. Após o tempo de incubação, fazia-se leitura dos resultados verificando-se a inibição do crescimento microbiano nas placas com dentifrícios quando comparadas com as placas controle (inoculadas e sem dentifrícios). Conceituou-se a concentração inibitória mínima como a menor concentração do dentifrício que inibiu totalmente o crescimento bacteriano.

Resultado

A Tabela 2 mostra a suscetibilidade dos isolados frente aos dentifrícios testados.

Tabela 2 – Suscetibilidade de 5 cepas de *S. mutans*, 20 cepas de *F. nucleatum* e 10 cepas de *A. actinomycetemcomitans* aos diferentes dentifrícios testados

Dentifrícios (marca comercial)	<i>S. mutans</i>		<i>F. nucleatum</i>		<i>A. actinomycetemcomitans</i>	
	Varição da CIM ¹ (mg/ml)	CIM ₉₀ ² (mg/ml)	Varição da CIM (mg/ml)	CIM ₉₀ (mg/ml)	Varição da CIM (mg/ml)	CIM ₉₀ (mg/ml)
AQUAFRESH	≤ 0,5-4,0	4,0	≤ 0,5-8,0	8,0	1,0-16,0	16,0
CLOSE UP	≤ 0,5-1,0	1,0	≤ 0,5-8,0	2,0	1,0-16,0	16,0
COLGATE BICARBONATO DE SÓDIO	≤ 0,5-1,0	1,0	≤ 0,5-2,0	2,0	1,0-16,0	8,0

Continuação

Dentífricos (marca comercial)	Microrganismos					
	<i>S. mutans</i>		<i>F. nucleatum</i>		<i>A. actinomycetemcomitans</i>	
	Variação da CIM ¹ (mg/ml)	CIM ₉₀ ² (mg/ml)	Variação da CIM (mg/ml)	CIM ₉₀ (mg/ml)	Variação da CIM (mg/ml)	CIM ₉₀ (mg/ml)
COLGATE Menta MFP Ca ⁺ 2	1,0-2,0	1,0	≤ 0,5-8,0	2,0	2,0-16,0	16,0
COLGATE TOTAL	≤ 0,5-1,0	1,0	≤ 0,5-2,0	2,0	≤ 0,5-8,0	2,0
CREST	1,0-4,0	4,0	≤ 0,5-16,0	8,0	1,0-16,0	8,0
KOLYNOS AÇÃO TOTAL	—	≤ 0,5	≤ 0,5-1,0	1,0	≤ 0,5-4,0	2,0
KOLYNOS SUPER BRANCO	≤ 0,5-1,0	1,0	≤ 0,5-2,0	2,0	1,0-16,0	8,0
ORAL B Dentes e Gengivas	1,0-4,0	4,0	≤ 0,5-8,0	8,0	1,0-8,0	8,0
SIGNAL AÇÃO GLOBAL	≤ 0,5-1,0	1,0	≤ 0,5-2,0	1,0	1,0-4,0	2,0
TANDY	—	2,0	≤ 0,5-4,0	2,0	1,0-16,0	16,0

¹ Concentração inibitória mínima.

² Concentração inibitória mínima para 90% das cepas testadas.

Os dentífricos mais eficazes em inibir o crescimento das cepas bacterianas testadas possuem triclosan em sua composição. Os demais dentífricos mostraram eficácia moderada para as três espécies bacterianas. A sensibilidade de *F. nucleatum* e *A. actinomycetemcomitans* aos dentífricos foi menor do que a apresentada por *S. mutans*.

A sensibilidade dos microrganismos isolados variou consideravelmente entre as cepas bacterianas, o mesmo acontecendo com a atividade antimicrobiana dos diferentes dentífricos testados.

Discussão

Embora muitos compostos tenham sido adicionados à composição de dentífricos comerciais com a finalidade de contribuir para a inibição da placa bacteriana, poucos são os relatos na literatura sobre a eficácia dessas formulações contra microrganismos periodontopatogênicos ou mesmo *S. mutans*.^{25,26}

Dos dentífricos comercializados no mercado brasileiro pouco ou nada se conhece sobre sua eficácia antimicrobiana ante bactérias anfi-

biônicas que compõem a placa bacteriana supra ou subgingival. Esses raros ensaios^{4,29} utilizaram, preferencialmente, o método de difusão em ágar, que não se mostra adequado para ser empregado em testes de suscetibilidade de microrganismos anaeróbios ou de cultivo mais exigente, mostrando-se inferior ao método de diluição em ágar, como demonstrado por Sutter et al.⁴¹ Além disso, de acordo com Ashley,¹ o método de diluição em ágar também mostra-se mais próximo da situação *in vivo*.

A presença de flúor* nos dentifícios testados pode contribuir para a atividade antimicrobiana desses produtos, como demonstrado por Cavalcanti et al.⁴ O elemento flúor é capaz de se acumular no interior de bactérias bucais levando a alterações metabólicas, inibindo especialmente a via glicolítica, responsável pela acidogenicidade de *S. mutans*,⁴⁷ podendo inibir a formação de polímeros intracelulares de carboidratos nessas bactérias^{8,16} e diminuir a adesão deste microrganismo à hidroxiapatita.²² Pouco se conhece sobre a ação do flúor em microrganismos assacarolíticos do gênero *Fusobacterium*, que obtém sua energia metabólica a partir da fermentação de aminoácidos³³ ou *A. actinomycetemcomitans*.

Embora Pearce & Jenkins³¹ tenham afirmado que o flúor iônico, liberado especialmente pelo fluoreto de sódio e fluoreto de estanho,^{6,36} apresenta atividade antimicrobiana maior do que o monofluorofosfato de sódio, este aspecto não foi observado no presente estudo. A atividade antimicrobiana dos dentifícios que contêm fluoreto de sódio, fluoreto de estanho ou monofluorofosfato de sódio como principais compostos antimicrobianos foi comparável entre si, porém as cepas de *S. mutans* foram mais sensíveis a esses compostos do que as cepas de *F. nucleatum* e de *A. actinomycetemcomitans*.

A concentração de flúor nos dentifícios não influenciou sobremaneira a atividade antimicrobiana destes, como pode ser observado na Tabela 2, onde a marca Close Up, com 1.000 ppm de monofluorofosfato de sódio, apresentou resultados semelhantes aos dentifícios Colgate Bicarbonato de Sódio e Colgate Menta MFP Ca⁺², que apresentam 1.450 ppm de monofluorofosfato de sódio. Este fenômeno pode estar associado à presença de compostos capazes de mascarar, com sua própria atividade antimicrobiana, a diferença de efetividade entre as diferentes concentrações de flúor.

* Termo genérico para as formas iônica (fluoreto), ionizável e não-ionizável do elemento flúor.

Dentre os compostos capazes de interferir com a efetividade do monofluorofosfato de sódio, *in vivo*, na prevenção da cárie dentária, destaca-se lauril sulfato de sódio, que pode inibir enzimas salivares e bacterianas associadas à liberação do flúor iônico.²¹

No presente estudo, *in vitro*, não foi possível avaliar a interferência do lauril sulfato de sódio na atividade antimicrobiana dos dentifrícios, já que ele está presente em todos os cremes dentais. A literatura cita esse composto aniônico como tendo atividade antimicrobiana contra bactérias bucais,²⁴ inibindo a formação da placa bacteriana, particularmente quando associado ao citrato de zinco.^{10,11}

Os dentifrícios mais efetivos em inibir o crescimento microbiano (Tabela 2) possuíam citrato de zinco e triclosan (2, 4, 4'-triclora 2'-hidroxi-feniléter) na sua composição. A atividade antimicrobiana do zinco e seus sais (citrato de zinco, cloreto de zinco) é bastante conhecida, sendo variados os estudos sobre a utilização deste íon metálico no controle da placa bacteriana^{14,42} e do seu metabolismo,³ podendo exercer atividade antimicrobiana por interferir com o crescimento e atividade enzimática de bactérias, afetando particularmente o transporte de nutrientes para o interior da célula.⁹

De acordo com Svaton et al.,⁴² o uso de dentifrícios contendo citrato de zinco e triclosan levou a um maior controle de formação de placa bacteriana e cálculo. No entanto, Bijella et al.³ mostraram que os sais de zinco possuem eficiente atividade antimicrobiana quando em solução, sendo pouco efetivos em dentifrícios, talvez por interagir com outros constituintes do creme dental.

Dentre os agentes antimicrobianos presentes nos dentifrícios com maior atividade antimicrobiana merece destaque o triclosan, que tem se mostrado capaz de reduzir o acúmulo de placa e cálculo, além de incrementar a manutenção de saúde gengival.¹⁷ Além da atividade antimicrobiana, este derivado fenólico possui atividade antiinflamatória, sendo capaz de inibir a síntese de prostaglandina⁵ e a atividade da histamina.¹⁸ Dentre as desvantagens deste composto lipossolúvel está o curto período em que permanece na cavidade bucal, o que pode ser contornado satisfatoriamente com a associação de um copolímero de metoxietileno e ácido maleico.

A elevada atividade antimicrobiana dos dentifrícios contendo triclosan, observada neste estudo, está de acordo com os resultados obtidos por Walker et al.,⁴⁴ que demonstraram que este composto atua especialmente sobre os microrganismos anaeróbios obrigatórios envolvidos com as periodontopatias, pouco interferindo com os comensais da placa

supragengival, o que minimiza o problema da recolonização da cavidade bucal por microrganismos oportunistas oriundos do ambiente extra-bucal.

Conclusão

- Todos os dentífricios foram capazes de inibir o crescimento bacteriano.
- Os dentífricios contendo triclosan apresentaram maior atividade antimicrobiana.
- Os microrganismos Gram negativos testados (*F. nucleatum* e *A. actinomycetemcomitans*) mostraram-se menos sensíveis aos dentífricios do que *S. mutans*.

GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E. et al. Antimicrobial activity of dentifrices on strains of amphibiontic bacteria isolated from oral cavity. *Rev. Odontol. UNESP* (São Paulo), v.27, n.1, p.193-205, 1998.

- **ABSTRACT:** *The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of eleven dentifrices on 5 strains of Streptococcus mutans, 20 strains of Fusobacterium nucleatum and 10 strains of Actinobacillus actinomycetemcomitans. The bacterial strains were submitted to susceptibility tests using an agar dilution method. It was used brain heart infusion agar supplemented with yeast extract in susceptibility tests and the plates with dentifrices and control were incubated under anaerobioses, at 37°C, for 48 hours. All dentifrices were able to exhibit some inhibitory activity on tested bacterial strains, however triclosan containing dentifrices showed to be more effective than the others.*
- **KEYWORDS:** *Dentifrices; dental caries; periodontal diseases, antimicrobial activity.*

Referências bibliográficas

- 1 ASHLEY, K. C. The antimicrobial properties of two commonly used antiseptic mouthwashes – Corsodyl and Oraldene. *J. Appl. Bacteriol.*, v.56, p.221-5, 1984.

- 2 BENNETT, K. W., DUERDEN, B. I. Identification of fusobacteria in a routine diagnostic laboratory. *J. Appl. Bacteriol.*, v.59, p.171-81, 1985.
- 3 BIJELLA, M. F. T. B. et al. Avaliação do efeito inibidor de dentifrícios anti-placa disponíveis no mercado, sobre o metabolismo da placa dentária humana. Estudo "in vitro". *RBO*, v.49, p.29-34, 1992.
- 4 CAVALCANTI, A. J. et al. Ação antimicrobiana de pastas dentifrícias contendo ou não fluoreto. *RGO*, v.34, p.366-70, 1986.
- 5 COLEMAN, E. J. et al. Triclosan prevents SLS-cytotoxicity to human gingival fibroblasts. *J. Dent. Res.*, v.72, 1993. (Abstract n.1837).
- 6 CURY, J. A. et al. Análise de dentifrícios fluoretados: concentração e formas químicas de fluoretos encontrados em produtos brasileiros. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, v.35, p.142-7, 1981.
- 7 DZINK, J. L., SHEENA, M. T., SOCRANSKY, S. S. Proposal of three subspecies of *Fusobacterium nucleatum* Knorr 1922: *Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum* subsp. nov., comb. nov., *Fusobacterium nucleatum* subsp. *polymorphum* subsp. nov., nom. rev. comb. nov., and *Fusobacterium nucleatum* subsp. *vicentii* subsp. nov. nom. rev., comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, v.40, p.74-8, 1990.
- 8 EISENBERG, A. D., OLDERSHAW, M. D. Effects of fluoride, lithium and strontium on grown and acid production of mutans streptococci and actinomyces viscosus. *Caries Res.*, v.25, p.179-84, 1991.
- 9 GALLAGHER, I. H., CUTRESS, T. W. The effect of trace elements on the growth and fermentation by oral streptococcy and actinomyces. *Arch. Oral Biol.*, v.22, p.555-62, 1977.
- 10 GIERTSEN, E., SCHEIE, A. A., RÖLLA, G. Plaque inhibition by a combination of zinc citrate and sodium lauryl sulfate. *Caries Res.*, v.23, p.278-83, 1989.
- 11 GIERTSEN, E., SVATUN, B., SAXTON, C. A. Plaque inhibition by hexetidine and zinc. *Scand. J. Dent. Res.*, v.95, p.49-54, 1987.
- 12 HAFFAJEE, A. D., SOCRANSKY, S. S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontology 2000*, v.5, p.78-110, 1994.
- 13 HARDIE, J. M. Oral streptococci. In: KRIEG, N. R., HOLT, J. G. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v.2, p.1.054-63.
- 14 HOEVEN, J. S. et al. The effect of chlorhexidine and zinc/triclosan mouthrinses on the production of acids in dental plaque. *Caries Res.*, v.27, p.298-302, 1993.
- 15 HOLT, J. G. et al. Genus *Fusobacterium*. In: _____. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9.ed. Baltimore:Williams & Wilkins, 1994. p.269.
- 16 IZAGUIRRE-FERNÁNDEZ, E. J., EISENBERG, A. D. Interaction of zinc with fluoride on growth, glycolysis and survival of *Streptococcus mutans*, GS-5. *Caries Res.*, v.23, p.18-25, 1989.

- 17 JENKINS, S., ADDY, M., NEWCOMBE, R. Triclosan and sodium lauryl sulphate mouthrinses. *J. Clin. Periodontol.*, v.18, p.140-4, 1991.
- 18 KJAERHAEIM, V. et al. Triclosan inhibits histamine-induced inflammation in human skin. *J. Clin. Periodontol.*, v.22, p.423-6, 1995.
- 19 LOESCHE, W. J. *Cárie dental uma infecção tratável*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1993. 349p.
- 20 MANDELL, R. L. et al. Microbiology of health and diseased periodontal sites in poorly controlled insulin dependent diabetics. *J. Periodontol.*, v.63, p.274-9, 1992.
- 21 MELSEN, B., RÖLLA, G. Reduced clinical effect of monofluorophosphate in the presence of sodium lauryl sulphate. *Caries Res.*, v.17, p.549-53, 1983.
- 22 MEURMAN, J. M. Ultrastructure, growth and adherence of *Streptococcus mutans* after treatment with chlorhexidine and fluoride. *Caries Res.*, v.22, p.228-87, 1988.
- 23 MOORE, W. E. C., MOORE, L. V. H. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, v.5, p.66-77, 1994.
- 24 MORAN, J., ADDY, M. The antibacterial properties of some commercially available toothpastes *in vitro*. *Br. Dent. J.*, v.156, p.175-8, 1984.
- 25 MORAN, J., ADDY, M., NEWCOMBE, R. The antibacterial effect of toothpastes on the salivary flora. *J. Clin. Periodontol.*, v.15, p.193-9, 1988.
- 26 MORAN, J., ADDY, M., WADE, W. Determination of minimum inhibitory concentrations of commercial toothpastes using an agar dilution method. *J. Dent.*, v.16, p.27-31, 1988.
- 27 NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Reference agar dilution procedure for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic approved standard, M-11 A. Villanova, Pa, 1985.
- 28 NOLTE, W. A. *Oral microbiology*. 3.ed. Saint Louis: Mosby, 1982. p.605-24, 689-720.
- 29 OLIVEIRA, C. M., ARAÚJO, W. C., SANT'ANNA, J. A. Ação de dentifícios sobre amostras de *Streptococcus* formadoras de placa "in vitro". *RBO*, v.30, p.171-9, 1973.
- 30 OMATA, R. R., DISRAELY, M. N. A selective medium for oral fusobacteria. *J. Bacteriol.*, v.72, p.677-80, 1956.
- 31 PEARCE, E. I. F., JENKINS, G. N. The inhibition of acid production in human saliva by monofluorophosphate. *Arch. Oral Biol.*, v.21, p.617-21, 1976.
- 32 PRETARA-SPANEDDA, P. et al. Effect on plaque accumulation of a mouth-wash containing sodium lauryl sulphate. *J. Dent. Res.*, v.65, p.310, 1986. (Abstract n.1267).
- 33 ROBRISH, S. A., OLIVER, C., THOMPSON, J. Sugar metabolism by fusobacteria: regulation of transport, phosphorylation, and polymer formation by *Fusobacterium mortiferum* ATCC 25557. *Infect. Immun.*, v.59, p.4547-54, 1991.
- 34 SAXTON, C. A. The effects of a dentifrice containing zinc citrate and 2, 4, 4', trichloro-2' - hydroxydiphenyl ether. *J. Periodontol.*, v.57, p.555-61, 1986.

- 35 SAXTON, C. A., HARRAP, G. J., LLOYD, A. M. The effect of dentifrices containing zinc citrate on plaque growth and oral zinc levels. *J. Clin. Periodontol.*, v.13, p.301-6, 1986.
- 36 SERRA, M. C., CURY, J. A. Cinética do flúor na saliva após o uso de dentifrícios e bochecho fluoretados. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, v.46, p.875-8, 1992.
- 37 SIMIONATO, M. R. L. Avaliação "in vitro" da influência de lecitinas de vegetais na aderência de estreptococos orais às células epiteliais bucais e hidroxiapatita recoberta por saliva. São Paulo: 1993. 98p. Tese (Doutoramento) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.
- 38 SLOTS, J. Selective medium for *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Clin. Microbiol.*, v.15, p.606-9, 1982.
- 39 SLOTS, J., GENCO, R. J. Black pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival and tissue destructions. *J. Dent. Res.*, v.63, p.412-21, 1984.
- 40 SOCRANSKY, S. S. et al. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J. Clin. Periodontol.*, v.18, p.766-75, 1991.
- 41 SUTTER, V. L. et al. Collaborative evaluation of a proposed reference dilution method of susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.16, p.495-502, 1979.
- 42 SVATUN, B., SAXTON, C. A., RÖLLA, G. Six-month study of the effect of a dentifrice containing zinc citrate and triclosan on plaque, gingival health, and calculus. *Scand. J. Dent. Res.*, v.98, p.301-4, 1990.
- 43 WALKER, C. B. et al. Medium for selective isolation of *Fusobacterium nucleatum* from human periodontal pockets. *J. Clin. Microbiol.*, v.10, p.844-9, 1979.
- 44 _____. The effects of a 0,3% triclosan containing dentifrice on the microbial composition supragingival plaque. *J. Clin. Periodontol.*, v.21, p.334-41, 1994.
- 45 WEYNE, S. Curso para atualização e educação continuada em Odontologia Preventiva (Cariologia). *RGO*, v.34, p.58-60, 1986.
- 46 YOON, N. A., BERRY, C. W. The antimicrobial effect of fluorides (acidulated phosphate, Na⁺², stannous) on *Actinomyces viscosus*. *J. Dent. Res.*, v.58, p.1.824-9, 1979.
- 47 YOTIS, W. W., BRENNAN, P. C. Binding of fluoride by oral bacteria. *Caries Res.*, v.17, p.444-54, 1983.