

Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”

UNIGRANRIO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DE PASTA PROHEAL
IMPREGNADA EM DIFERENTES FIOS DE SUTURA**

Miguel Angelo Nogueira

Duque de Caxias

2019

MIGUEL ANGELO NOGUEIRA

**Avaliação do efeito antimicrobiano de pasta proheal impregnada em diferentes fios
de sutura**

Dissertação apresentada à Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Implantodontia

Orientadora: Carina Maciel da Silva
Boghossian

Duque de Caxias

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UNIGRANRIO – NÚCLEO DE COORDENAÇÃO DE BIBLIOTECAS

N778a Nogueira, Miguel Angelo.

Avaliação do efeito antimicrobiano de pasta proheal impregnada em diferentes fios de sutura / Miguel Angelo Nogueira. – 2019.
31 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado em Odontologia) – Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”, Escola de Ciências da Saúde, 2019.
“Orientadora: Prof.^a Dr.^a Carina Maciel da Silva Boghossian”.

Referências: f. 28.

1. Odontologia. 2. Implantodontia. 3. Fios de sutura. 4. Clorexidina. 5. Agentes antimicrobianos. I. Boghossian, Carina Maciel da Silva. II. Universidade do Grande Rio “Prof. José de Souza Herdy”. III. Título.

CDD – 617.6

MIGUEL ANGELO NOGUEIRA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIMICROBIANO DE PASTAS DE IMPREGNAÇÃO
EM DIFERENTES FIOS DE SUTURA**

Dissertação apresentada à Universidade do Grande Rio "Prof. José de Souza Herdy" UNIGRANRIO para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Área de Concentração:
Implantodontia

Aprovada em 04 de julho de 2019

Banca Examinadora



Prof. Dr. Charles Marin
UNIGRANRIO – Universidade do Grande Rio



Prof.ª Dr.ª Renata Martins do Souto
UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro



Prof. Dr. Rodrigo Granato
UNIGRANRIO – Universidade do Grande Rio

Dedicatória

Ao meu eterno mentor, pai, professor, anjo, Dr. Odenis Rodrigues Nogueira.
Saudades eternas. (in memoriam)

AGRADECIMENTOS

Somos seres inteiramente dependentes.

Dentro desse pensamento deixo aqui registrado minha gratidão por ter participado desse estudo, principalmente à minha orientadora, que, de forma extremamente profissional e exemplar, conduziu a ideia do mesmo até sua conclusão, Dra. Carina Boghossian, muito obrigado.

Agradeço às alunas Aline Abdala, Rhyanne Melo, Adilla Albuquerque, Juliana Ferreira, Danielle Rodrigues, que diretamente participaram da busca pelos nossos resultados.

Um agradecimento todo especial à minha esposa, Caroline, que nesse período de estudos me confortou nas horas de maior dificuldade, e isso somente ela sabe como foi.

À minha filha, Isis, que é meu motivo, meu principal combustível, para superar qualquer degrau nessa vida.

À minha mãe, Maria dos Anjos, a meu irmão, Vinicius, que sempre serão parte integral de minhas raízes, as quais sempre se fortalecerão com o passar dos anos.

Ricardo Louro, que é uma referência profissional.

Um agradecimento final à minha turma de mestrado, Raphael, Ricart, Bruno, Meleny, Bianca, Lucas, e aos professores, Rodrigo, Plínio e Charles, pelos conhecimentos ali trocados.

Ciência verdadeira é aquela que beneficia a quem mais necessita!

RESUMO

Além de promover o fechamento da ferida, no ambiente bucal, os fios de sutura se tornam um fator retentivo de placa bacteriana no pós-operatório, e assim se torna mais um objeto de atenção na higiene. O objetivo do presente estudo foi testar o efeito antimicrobiano de pastas de impregnação em diferentes fios de sutura. Amostras de saliva foram incubadas em aerobiose e anaerobiose para se testar o efeito antimicrobiano de três produtos (clorexidina a 2%; clorexidina a 2% com calêndula a 4%; e Proheal) combinados ou não a fios de sutura de nylon e seda. Após o período de incubação foram mensurados o halo de inibição com e sem os produtos teste; e foi feita a contagem das unidades formadoras de colônias (UFCs). Foi observado que Proheal e placebo não foram capazes de produzir halo algum tanto em aerobiose quanto em anaerobiose. Quanto à contagem de UFCs, Proheal não diferiu do placebo, e foi significativamente maior quando comparado aos produtos com clorexidina ($p < 0,0001$). Não houve diferenças significativas entre os fios de sutura. Pode-se concluir que o efeito antimicrobiano in vitro da pasta Proheal sobre microrganismos da saliva foi significativamente inferior ao observado com os produtos com clorexidina; e os resultados observados para os fios de sutura, nylon e seda, foram semelhantes entre eles.

Palavras-chave: fio de sutura; Proheal; clorexidina.

ABSTRACT

In addition to promoting closure of the wound, in the oral environment, the suture threads become a retentive factor of bacterial plaque in the postoperative period, and thus becomes another object of hygiene attention. The aim of the present study was to test the antimicrobial effect of impregnation pastes on different suture threads. Saliva samples were incubated in aerobiosis and anaerobiosis to test the antimicrobial effect of three products (2% chlorhexidine, 2% chlorhexidine with 4% marigold, and Proheal) combined or not with nylon and silk suture threads. After the incubation period, the inhibition halo was measured with and without the test products; and counting of colony forming units (CFUs). It was observed that Proheal and placebo were not able to produce some halo either in aerobiosis or anaerobiosis. Regarding the CFU count, Proheal did not differ from placebo, and was significantly higher when compared to chlorhexidine products ($p < 0.0001$). There were no significant differences between the sutures. It can be concluded that the *in vitro* antimicrobial effect of Proheal paste on salivary microorganisms was significantly lower than that observed with chlorhexidine products; and the results observed for suture, nylon and silk threads were similar between them.

Keywords: Suture thread; Proheal; chlorhexidine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Ilustração da mensuração do diâmetro do halo de inibição com o programa ImageJ	14
Figura 2.	Ilustração da contagem das unidades formadoras de colônia com o programa ImageJ	14
Figura 3.	Imagem de uma placa de petri após o período de incubação de 48 h em aerobiose com os produtos teste	16
Figura 4.	Tubos com caldo BHI após a incubação de alíquota de saliva com os produtos teste	17
Figura 5.	Imagem de placa de petri após a incubação do caldo semeado	18
Figura 6.	Imagem de uma placa de petri após o período de incubação de 48 h em aerobiose com os produtos teste	20
Figura 7.	Imagem de placa de petri após a incubação de 7 dias do caldo semeado	21
Figura 8.	Cultivo de saliva em ágar-sangue com fios de sutura, nylon e seda, combinados com os produtos teste	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Teste de difusão no ágar dos produtos teste cultivados com saliva em aerobiose	14
Tabela 2.	Média e desvio-padrão da contagem de unidade formadoras em aerobiose após incubação com os produtos teste em caldo	16
Tabela 3.	Teste de difusão no ágar dos produtos teste cultivados com saliva em anaerobiose	18
Tabela 4.	Imagem de uma placa de petri após o período de incubação de 48 h em aerobiose com os produtos teste	20
Tabela 5.	Médias e desvios-padrões dos dados encontrados em cultivo de saliva em anaerobiose com os fios de sutura de nylon e de seda cobertos com os produtos teste	22

SUMÁRIO

1. Introdução	1
2. Revisão de Literatura	4
3. Objetivo	10
4. Material e métodos	11
5. Resultados	15
6. Discussão	24
7. Conclusão	27
8. Referências bibliográficas	28

1. Introdução

Fios de sutura têm uma grande importância no pós-operatório de cirurgias orais. Seu principal objetivo é a estabilização da ferida cirúrgica de forma que evite grandes deformidades no remodelamento dos tecidos e ofereça de forma segura a estabilidade da união dos bordos e também no controle da hemostasia. Um complicador dos fios de sutura dentro das cirurgias orais é o controle microbiano, levando em consideração que a cavidade oral é um ambiente com altos níveis de diferentes bactérias e durante o pós-operatório se torna mais um objeto de atenção na higiene, podendo colocar, assim, o procedimento em risco (SOARES et al. 2001).

Historicamente, vários materiais de sutura foram usados para fechar feridas cirúrgicas. Desde o Renascimento até a década de 1940, não houve mudança significativa na composição do material de sutura cirúrgica que incluiu o uso de catgut, algodão e seda. Na década de 1940, fios de sutura de nylon e poliéster foram produzidos, que são os primeiros materiais de sutura sintética. Logo em seguida, surgiram os fios de polietileno e polipropileno, que são materiais termoplásticos. Na década de 1970, foi desenvolvido um fio de sutura reabsorvível sintético, o ácido poliglicólico, e, em 1975, surgiram os fios a base de poliglactina 910 (BARROS et al. 2011, MEDEIROS et al. 2016).

A literatura médica profissional descreve algumas características básicas dos fios de sutura, como resistência à tração, ser biocompatível e não induzir a infecções. Porém pode gerar uma reação tecidual que é indicada por uma reação inflamatória que, mesmo mínima, ocorre nos primeiros dois a sete dias após a aplicação das suturas. Do ponto de vista da cirurgia odontológica, existem vários parâmetros clínicos importantes que influenciam a seleção dos materiais de sutura: a) acúmulo de placa bacteriana no material; b) decúbito dos tecidos moles circundantes; e c) deiscência da ferida. Os

parâmetros clínicos acima mencionados estão interligados, de modo que a exposição de um afeta diretamente os outros, e todos juntos afetam o processo de cicatrização da ferida na cavidade oral (BARROS et al. 2011, MIRKOVIC e MIRKOVIC 2011, MEDEIROS et al. 2016).

Experimentos clínicos e laboratoriais indicam que a maioria das infecções de feridas começam em torno de material deixado dentro da ferida, podendo ocasionar abscessos locais diretamente relacionado ao grau de contaminação da estrutura (HARNET et al. 2009).

Os principais e mais acessíveis fios disponíveis para tais procedimento são os monofilamentados e multifilamentados, o que os torna bem diferentes no processo de retenção microbiana. Os monofilados, sendo estrutura única, têm grandes vantagens sobre os multifilamentados, que tem número maior de fibras, que causam, assim, uma área de maior acúmulo de placa bacteriana. Uma forma de tentar prevenir as contaminações é impregnar os filamentos dos fios de sutura com uma substância antimicrobiana (CRUZ et al. 2013). Os materiais monofilamentados acumulam menor quantidade de placa, porém causam um maior desconforto pós-operatório.

Em vista disso o objetivo do presente trabalho é testar o efeito antimicrobiano da pasta PROHEAL impregnado em dois tipos fios de sutura, nylon e seda, e comparar os resultados *in vitro* com a clorexidina gel a 2%.

2. Revisão de literatura

A manutenção do equilíbrio microbiano na cavidade oral sempre será a grande preocupação na Odontologia, tanto na manutenção periódica para a prevenção de doenças, quanto no acompanhamento de tratamentos. Este controle microbiano torna-se especialmente importante no controle pós-operatório, a fim de se evitar possíveis infecções do sítio operado (CRUZ et al. 2013; PELZ et al. 2015).

2.1. Sutura intra-oral e pós-operatório

Dependendo da localização, especificidade e condição dos tecidos das regiões operadas, a escolha do tipo e espessura do material de sutura cirúrgica podem interferir no resultado. O material age como um corpo estranho que provoca a reação do tecido. Isto é especialmente verdadeiro para a sutura na cavidade bucal, onde existem condições ambientais específicas como a umidade constante e a presença de um grande número de microrganismos (MIRKOVIC e MIRKOVIC 2011).

Os materiais de sutura devem superar os requisitos básicos no controle pós cirúrgico, como debridamento completo e fechamento adequado dos bordos. Outro fator que interfere é o comportamento microbiano que vai guiar a escolha do material mais adequado (MASINI et al. 2011).

A infecção relacionada a corpo estranho bactérias ligadas a superfícies, portanto formadoras de biofilme, sendo assim, materiais cirurgicos e/ ou materiais de sutura servem como substrato para a aderência de microorganismos (OTTEN et al. 2005; MING et al. 2007a; MING et al. 2007b).

2.2. Tipos de fio de sutura

Os materiais de sutura usados no tratamento de feridas eram originalmente materiais naturais, incluindo tendões de animais e fibras de algodão. Entretanto, estes materiais podem gerar complicações como inflamações dos tecidos circundantes ou acúmulo inadequado de placa bacteriana, respectivamente. Atualmente, há emprego da tecnologia na produção de fios de sutura, mas as suturas continuam sendo materiais estranhos e capazes de acumular bactérias (PELZ et al. 2015).

Uma vez que há instalação de biofilme bacteriano sobre o fio de sutura, é muito difícil sua remoção. Assim, materiais de sutura aplicados durante a cirurgia carregam um risco intrínseco de infecções de ferida e complicações associadas, pois apresentam um efeito de capilaridade permitindo a entrada de bactérias (Obermeier et al. 2014). Vários estudos mostraram que as feridas com infecções podem causar estadias mais longas no hospital, exigindo tratamento mais intensivos, contribuindo não apenas com aumento da morbidade, mas também dos custos financeiros (EDMISTON et al. 2006, PELZ et al. 2015).

Algumas propriedades físicas específicas dos fios de sutura são importantes de serem observadas, como boa resistência à tração, estabilidade dimensional, boa segurança dos nós, e flexibilidade suficiente para evitar danos à mucosa oral. Ao mesmo tempo, eles devem evitar ou limitar a adesão bacteriana, impedindo proliferação e exposição sistêmica às mesmas. Por outro lado, um bom material de sutura não deve interferir na proliferação celular ou na organização do tecido conjuntivo (BANCHE et al. 2007).

Qualquer material de sutura, absorvível ou não, provoca algum tipo de reação inflamatória dentro do tecido. Fios de seda e sutura de ácido poliglicólico absorvível foram comparados clinicamente e histologicamente, e conclui-se que a sutura do ácido

poliglicólico é muito superior à sutura de seda em termos de força de retenção, reação tecidual, capacidade de amarração e características de manuseio. O fio de seda, sendo um fio orgânico acarreta maior reação tecidual e, por se tratar de um multifilamento, maior risco de infecção. (BALAMURUGAN et al. 2012).

Durante um período, houve pouco interesse acadêmico no desenvolvimento de suturas. Entretanto, com o surgimento da medicina regenerativa, este cenário está mudando, pois o paradigma de sutura como um simples material inerte, que apenas aproxima mecanicamente o tecido, passou a ser visto como um material bioativo, que também pode promover ativamente o reparo (ABHARI et al. 2017).

O nylon é um material sintético, monofilamentar derivado de poliamidas que se caracteriza pela elasticidade devido a sua resistência mecânica. É frequentemente utilizado para a síntese da pele e produz baixa reatividade tecidual. Recentemente, demonstrou-se que os fios de sutura de nylon são os que menos geram acúmulo bacteriano após um período de após 10 dias de instalação, quando comparado com fios a base de seda, poliglactina e poliéster (ASHER et al. 2019).

A maioria das infecções pós-operatórias são iniciadas nas proximidades da sutura, indicando que a presença do material aumenta a retenção bacteriana, especialmente de espécies compatíveis com infecções purulentas, e não com saúde gengival (OTTEN et al. 2005).

2.3. Importância do controle bacteriano no pós-operatório

Diversos casos de complicações com alta morbidade e até a mortalidade estão associados a efeitos no descontrole do pós-operatório. Estima-se que 750.000 infecções ocorrem nos EUA a cada ano, gerando custos excessivos para a saúde pública. Os pilares para reduzir o risco de infecção das cirurgias incluem: técnica cirúrgica

adequada, profilaxia antimicrobiana, antissepsia da pele e identificação de estratégias adjuntas para reduzir a contaminação das feridas e promover cicatrização de feridas (EDMISTON et al. 2006).

As suturas desempenham um papel importante na cicatrização de feridas após intervenção cirúrgica, permitindo a reaproximação de tecidos separados por trauma cirúrgico ou acidental, a promoção da cicatrização inicial e o controle da hemorragia. Portanto, o material de sutura deve ser selecionado cuidadosamente. Em particular, suturas utilizadas em cirurgia oral se comportam de maneira diferente daquelas empregadas em outras partes do corpo, por causa da qualidade dos tecidos envolvidos, a presença constante de saliva, os altos níveis de vascularização e funções relacionados à fala, mastigação e deglutição (BANCHE et al. 2007). Portanto, o estudo de diferentes materiais que podem ser utilizados como fios de sutura, além do método de esterilização a que são submetidos, contribuem para a redução do acúmulo de biofilme no local da cirurgia (PELZ et al. 2015).

2.4. Métodos para garantir o controle bacteriano no pós-operatório

Além das estratégias referidas acima sobre o controle de infecção na manufatura dos fios de sutura, existem métodos adicionais que colaboram com o controle do acúmulo bacteriano no pós-operatório (PELZ et al. 2015). O emprego de bochechos com clorexidina durante o período de permanência da sutura é um método prático de ser administrado (FARIA et al. 2011). No entanto, algumas vezes não se evidencia resposta eficaz nesta estratégia, pois depende da aderência do paciente ao tratamento. Por outro lado, os efeitos adversos decorrentes do uso de clorexidina podem ser bastante inconvenientes (FARIA et al. 2011).

2.4.1. Gel de clorexidina

O gluconato de clorexidina, comercialmente chamado apenas de Clorexidina, é um antisséptico antimicrobiano que possui ação bacteriostática inibindo a proliferação celular. Acredita-se que o mecanismo de ação ocorre com a ruptura da membrana celular. É usado em Odontologia em diferentes situações clínicas, que incluem a prevenção do acúmulo de biofilme bacteriano, da gengivite, e da infecção de sítio cirúrgico através de uma característica particular de sua substantividade, que é a capacidade de ficar retida nas superfícies e fluidos orais (BELOW et al. 2017). O objetivo é reduzir o montante de bactérias orais, que podem invadir a corrente sanguínea através de procedimentos cirúrgicos, como extrações dentárias, sendo que a incidência de bacteremia é de 70-80% após extração dentária (MANAGUTTI et al. 2017). Foi demonstrado em um ensaio clínico que bochecho prévio à extração de terceiros molares com clorexidina é capaz de reduzir de 60% (bochecho com solução salina) a 20% a ocorrência de bacteremia (MANAGUTTI et al. 2017). Em um estudo similar (TUNA et al. 2012), foi demonstrado também a capacidade de reduzir para 33% a ocorrência de bacteremia.

No caso de cuidados pós-operatórios, a clorexidina é usada rotineiramente como substituto da limpeza mecânica no sítio operado a fim de se evitar infecções (HERMESCH et al. 1998). Estudos mostram a capacidade profilática dos bochechos de clorexidina na ocorrência de alveolites pós-extração de terceiros molares (HERMESCH et al. 1998; COELLO-GOMEZ et al. 2018).

Além do uso tópico de clorexidina em odontologia, alguns estudos demonstram seu efeito antibacteriano quando esta é aplicada como uma cobertura ao fio de sutura (OBERMEIER et al. 2014; KARDE et al. 2019). No estudo de OBERMEIER et al. (2014), foi demonstrado que o efeito da clorexidina combinada com ácidos graxos se estende por vários dias.

2.4.2. Proheal

O Proheal (BiomacMed, Juiz de Fora, MG, Brasil) é um agente de preenchimento e antisséptico indicado na profilaxia e tratamento da contaminação microbiana do interior dos implantes dentais, componentes cirúrgicos, protéticos e próteses temporárias e definitivas implanto-suportadas. Indicado também para o controle microbiano (aderência de biofilme) nas superfícies de fios de sutura, dentes temporários de resina acrílica, superfícies de dentes naturais sob mock-ups e superfícies de dispositivos utilizados na cavidade oral, como cimento cirúrgico, epíteses, etc (<http://proheal.biomacmed.com.br>). Uma pomada anti-séptica específica para controle bacteriano, cujos ingredientes ativos são iodofórmio e extrato de calêndula (CRUZ et al. 2013). Segundo o fabricante, durante o desenvolvimento da formulação buscou-se, primariamente, poder antimicrobiano capaz de evitar contaminação da interface, estabilidade físico-química de modo que a pomada permanecesse no local durante longo tempo e não se degradasse em componentes inefetivos ou tóxicos, garantido a efetividade a longo prazo; e ainda, a compatibilidade com os tecidos humanos de modo que qualquer contato fosse, no mínimo, inofensivo e, preferencialmente, positivo. O iodofórmio apresenta alto conteúdo de iodo (96%) e, devido à sua instabilidade química, em contato com secreções ou áreas infectadas libera iodo nascente que age como um potente anti-séptico, destruindo bactérias. Já a calendula é amplamente utilizada como antiinflamatório e cicatrizante (CRUZ et al. 2013). Portanto, a proposta de uso de Proheal adicionado ao fio de sutura teria o objetivo de reduzir o acúmulo bacteriano até sua remoção.

3. Objetivo

O objetivo do presente trabalho é testar o efeito antimicrobiano da pasta PROFEAL impregnada em diferentes fios de sutura.

4. Materiais e Métodos

4.1. Coleta de saliva

Saliva não estimulada foi coletada um pool dos pesquisadoras e colocada em recipientes de coleta de material biológico descartáveis estéreis.

4.2. Produtos selecionados

Foram testados 3 produtos para impregnação de fios de sutura: clorexidina a 2%; clorexidina a 2% com calêndula a 4%; e Proheal.

Além destes, um produto sem atividade antimicrobiana foi utilizado como controle negativo, (Base: lanolina/ BHT / cera de abelha). Com exceção do produto Proheal, todos os outros foram manipulados (Farmácia de Manipulação FHB, Petrópolis, RJ, Brasil).

4.3. Análise da atividade antimicrobiana com pool salivar

A saliva coletada foi diluída em água destilada na proporção de 1:100 e foi utilizada para semear placas de Petri com o meio de cultura TSA (Trypticase Soy Agar, BBL, Becton Dickinson, Cockeysville, MD, USA) e ágar sangue. As placas com TSA foram incubadas em aerobiose em estufa a 37° C por 48 h. O material semeado em ágar sangue foi incubado em jarras de anaerobiose com gerador de anaerobiose (Anaerobac, Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda, São Paulo, Brasil) por 7 dias.

4.3.1. Etapa 1 – teste de difusão em ágar

Inicialmente, os produtos selecionados foram testados nos diferentes meios de cultura e em diferentes atmosferas para avaliar a efetividade dos mesmos sobre a microbiota salivar.

Após a semeadura das placas com saliva diluída 1:100, furos foram feitos no ágar, com auxílio de ponteira de micropipeta 1000, estéril, para acomodar a mesma dimensão dos produtos estudados. Os halos de inibição foram mensurados e as unidades formadoras de colônia (UFCs) foram contadas por um examinador após o período de incubação: 48 h em aerobiose e 7 dias em anaerobiose.

4.3.2. Etapa 2 – contagem de unidades formadoras de colônia

Para avaliar a capacidade antimicrobiana dos produtos quando incubados com saliva, foi realizado a introdução de uma alíquota de saliva (1 mL) em caldo BHI adicionando-se 0,5 g de cada produto por tubo. Os tubos foram incubados em aerobiose por 48 h. Após este período, um *swab* foi utilizado para fazer cultivo em placas com TSA ou ágar-sangue, do caldo após a incubação. As placas com TSA foram incubadas por 48 h em aerobiose, e as com ágar-sangue por 7 dias em anaerobiose. Ao final do período de incubação, as UFCs foram contadas nas placas.

4.3.3. Etapa 3 – ação dos produtos quando combinados a fio de sutura

Comprimentos iguais (1 cm) de fios de sutura de nylon (3-0) de seda (3-0) foram impregnados com os produtos em estudo. Estes foram colocados nas placas de Petri para verificação de inibição microbiana, através dos halos de inibição e da contagem de UFCs. As placas foram incubadas em aerobiose e em anaerobiose, de acordo com o tipo de ágar, em estufa a 37° C por 48 h e por 7 dias, respectivamente.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

4.4. Análise dos dados

Fotografias foram obtidas das placas após os períodos de incubação. A seguir, as imagens foram analisadas no programa de análise de imagens ImageJ (disponível em <http://imagej.nih.gov>). Neste programa, foram realizadas as mensurações dos halos de inibição (Figura 1), onde a referência é o diâmetro total da placa Petri de 9 cm, e da contagem das UFCs (Figura 2), obtendo-se uma média para cada produto em cada uma destas análises. Estes valores foram analisados para diferenças significativas em um programa estatístico (SPSS Statistics 20, IBM Brasil, São Paulo, SP, Brasil). Os testes estatísticos utilizados foram Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. O nível de significância utilizado foi de 5%.

Figura 1. Ilustração da mensuração do diâmetro do halo de inibição com o programa ImageJ.

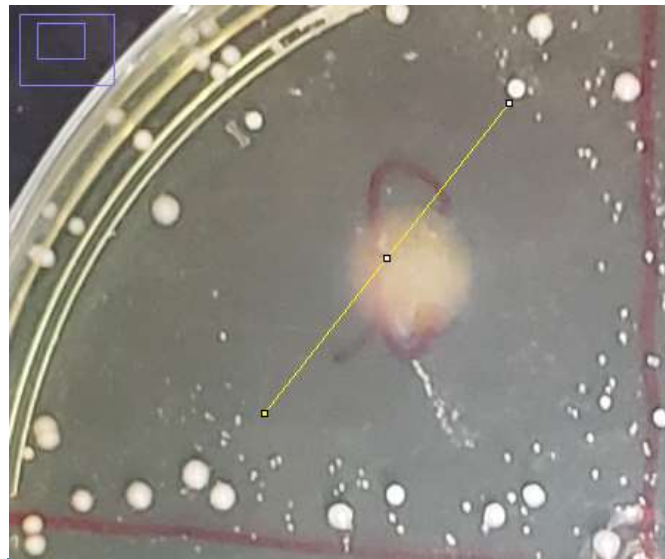
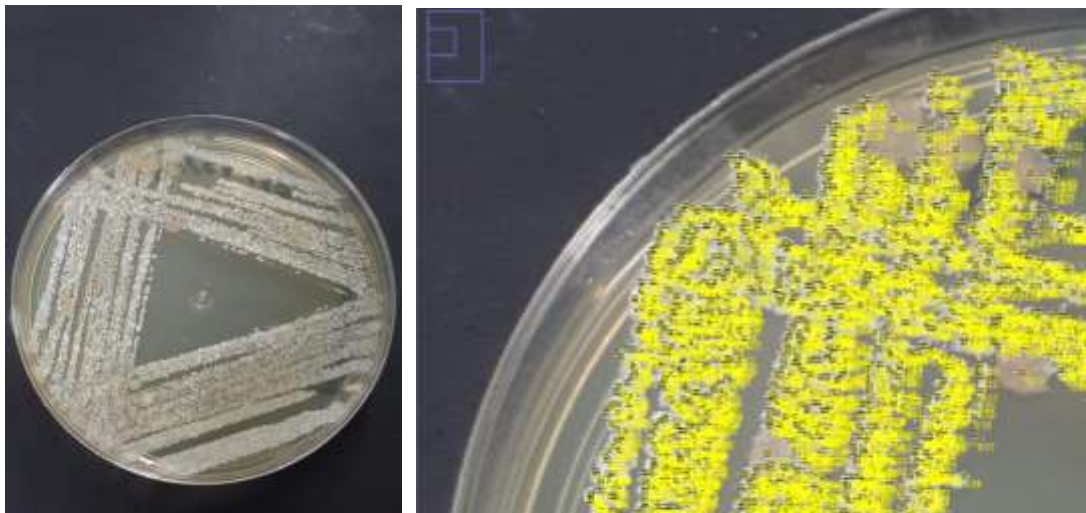


Figura 2. Ilustração da contagem das unidades formadoras de colônia com o programa ImageJ.



5. Resultados

5.1.1. Resultados em aerobiose

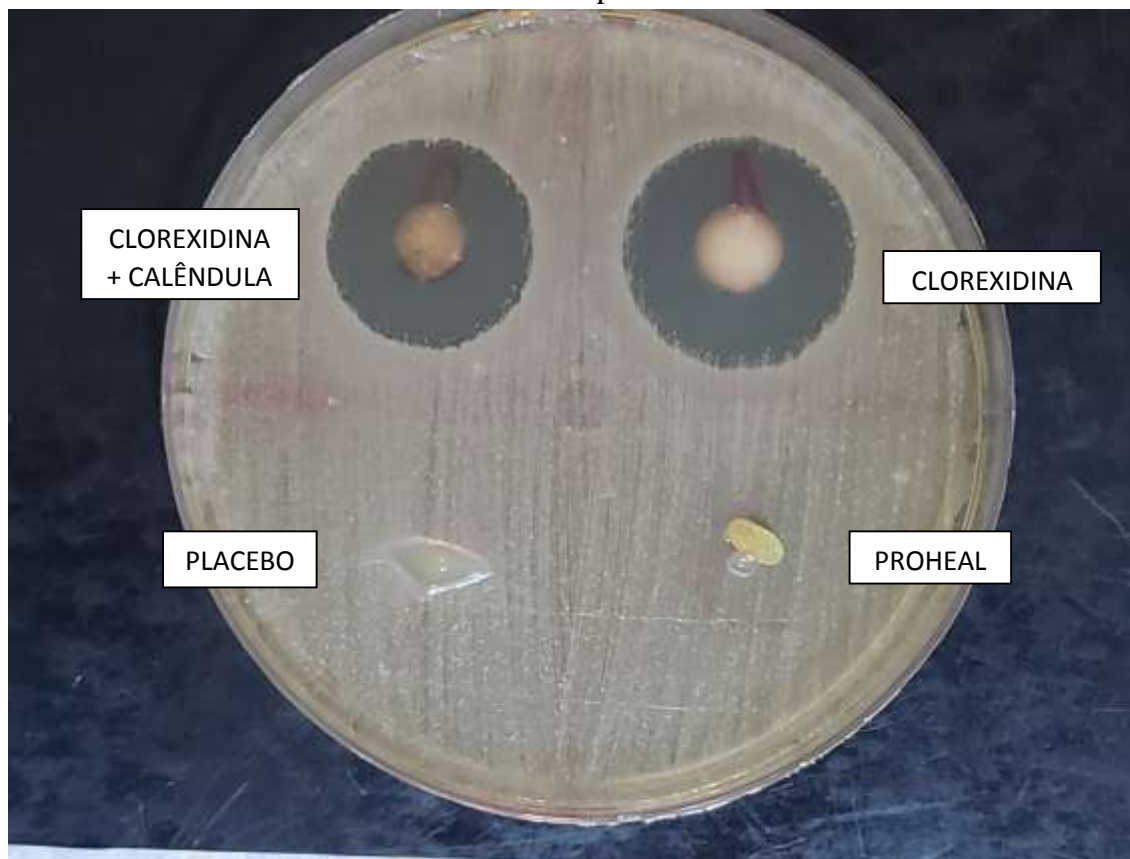
Na Tabela 1 estão apresentados os valores encontrados para os halos de inibição sobre microrganismos da saliva, quando cultivados em aerobiose com os produtos em estudo. Foi observado que Proheal e placebo não foram capazes de produzir halo algum. Quando se analisou para diferença estatística todos os produtos, não foi observado significância. Entretanto, quando se comparam os produtos à base de clorexidina, a clorexidina pura apresentou significativamente maior halo de inibição ($p < 0,0001$; teste Mann-Whitney) comparada à clorexidina com calêndula. A Figura 3 ilustra estes achados.

Tabela 1. Teste de difusão no ágar dos produtos teste cultivados com saliva em aerobiose.

Produto	Média de halo de inibição em cm	Desvio padrão	Valor de p*
Clorexidina	2,95 a	0,01	
Clorexidina + calêndula	2,57 b	0,13	0,078
Proheal	0	-	
Placebo	0	-	

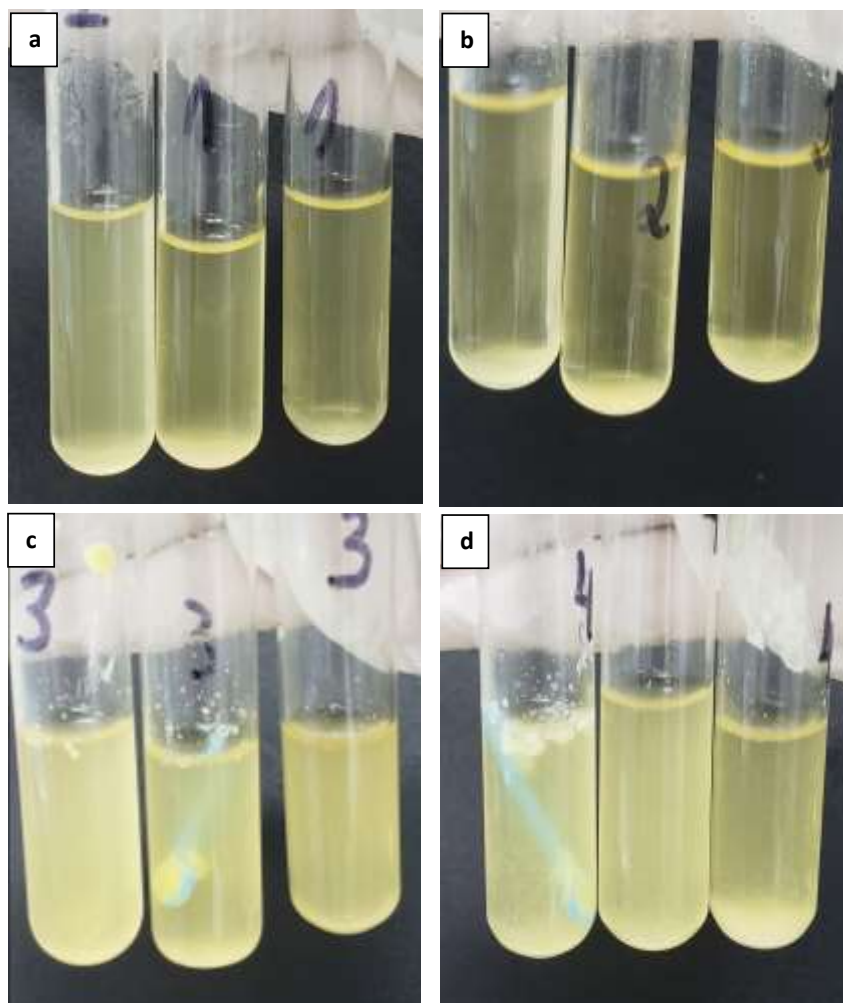
* Teste Kruskal-Wallis. Letras diferentes indicam diferença estatística com p valor $< 0,0001$.

Figura 3. Imagem de uma placa de petri após o período de incubação de 48 h em aerobiose com os produtos teste.



A fim de se contar as UFCs, alíquotas de saliva foram incubadas em caldo. Após o período de 48 h (Figura 4), este material foi semeado em ágar. Novamente, após 48h de incubação, as UFCs foram contadas (Figura 5). Para os produtos à base de clorexidina, não houve crescimento como demonstrado na Tabela 2. Para Proheal, foi encontrada uma média de 1317 (\pm 1159,8); e para o placebo foi de 1969 (\pm 2739,3). Na comparação entre os quatro produtos, foi encontrada uma diferença significativa ($p = 0,024$). Entretanto, quando se compara a média de Proheal com controle negativo, não há diferença estatística. Porém, foram encontradas diferenças estatísticas quando se compara Proheal com clorexidina ($p < 0,0001$) e clorexidina com calêndula ($p < 0,0001$).

Figura 4. Tubos com caldo BHI após a incubação de alíquota de saliva com os produtos teste.



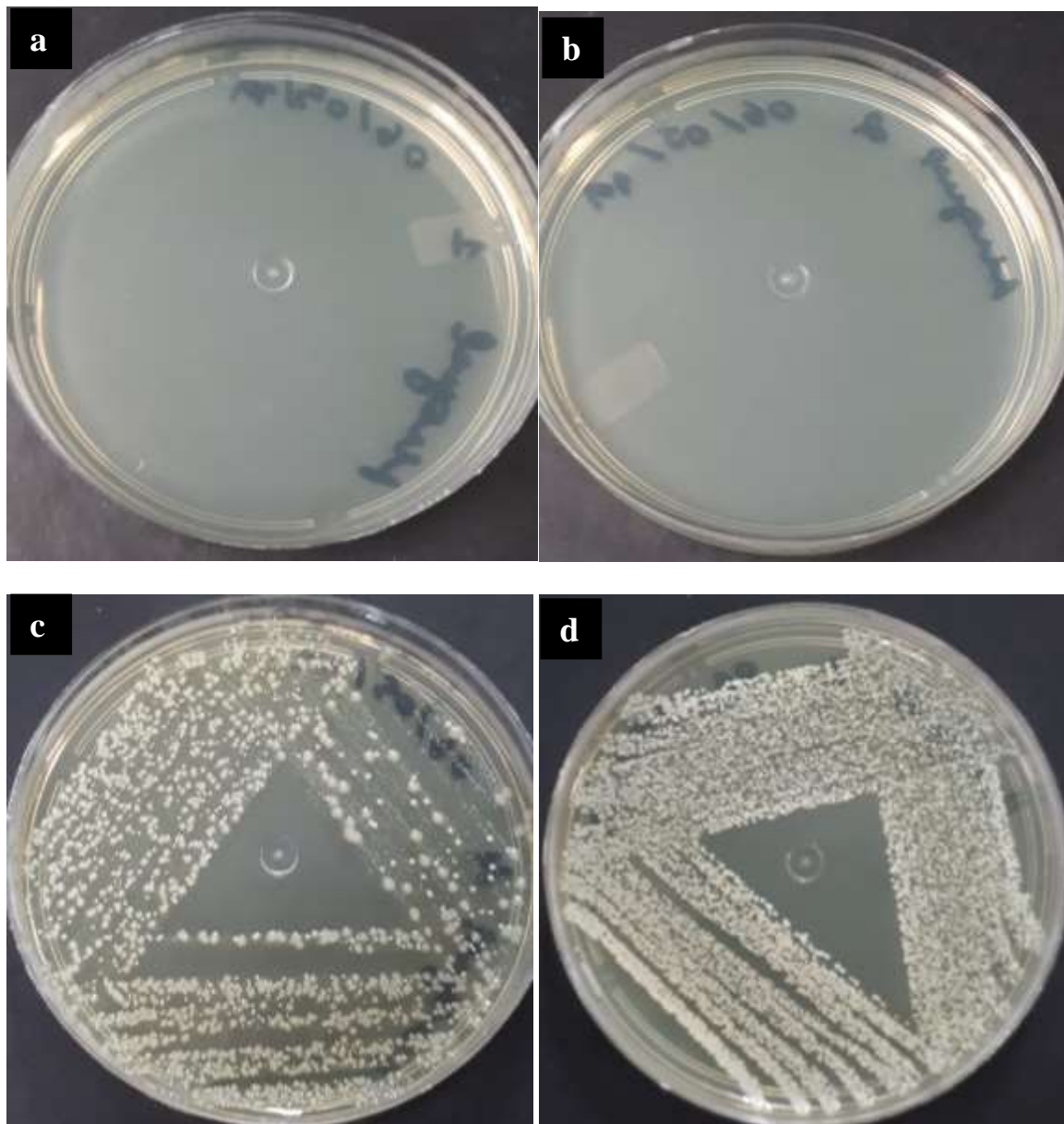
a: clorexidina; b: clorexidina com calêndula; c: Proheal; d: placebo.

Tabela 2. Média e desvio-padrão da contagem de unidade formadoras em aerobiose após incubação com os produtos teste em caldo.

Produto	Média de UFC	Desvio padrão	Valor de p*
Clorexidina	0	-	
Clorexidina + calêndula	0	-	0,024
Proheal	3005	3346,3	
Placebo	7876	10957,2	

* Teste Kruskal-Wallis.

Figura 5. Imagem de placa de petri após a incubação do caldo semeado.



a: clorexidina; b: clorexidina com calêndula; c: Proheal; d: placebo.

5.1.2. Resultados anaerobiose

Na Tabela 3 estão apresentados os valores encontrados para os halos de inibição sobre microrganismos da saliva, quando cultivados em anaerobiose com os produtos em estudo. Foi observado que Proheal e o controle negativo não foram capazes de produzir halo algum. Quando se comparam os produtos à base de clorexidina, diferenças significativas não foram encontradas. A Figura 6 ilustra estes achados.

Tabela 3. Teste de difusão no ágar dos produtos teste cultivados com saliva em anaerobiose.

Produto	Média de halo de inibição em cm	Desvio padrão	Valor de p*
Clorexidina	3,16	0,06	
Clorexidina + calêndula	3,186	0,34	0,005
Proheal	0	0	
Placebo	0	0	

* Teste Kruskal-Wallis.

Como descrito acima, a fim de se contar as UFCs, alíquotas de saliva foram incubadas em caldo. Após o período de 48 h (Figura 4), este material foi semeado em ágar-sangue. Novamente, após 7 dias de incubação em anaerobiose, as UFCs foram contadas (Figura 7). Para os produtos à base de clorexidina, não houve crescimento como demonstrado na Tabela 4. Para Proheal, foi encontrada uma média de 969,3 (\pm 719,6); e para o placebo foi de 480,0 (\pm 411,3). Na comparação entre os quatro produtos, foi encontrada uma diferença significativa ($p = 0,02$). Entretanto, quando se compara a média de Proheal com placebo, não há diferença estatística. Porém, novamente, diferenças estatísticas foram encontradas quando se compara Proheal com clorexidina ($p < 0,0001$) e clorexidina com calêndula ($p < 0,0001$).

Figura 6. Imagem de uma placa de petri após o período de incubação de 48 h em anaerobiose com os produtos teste.

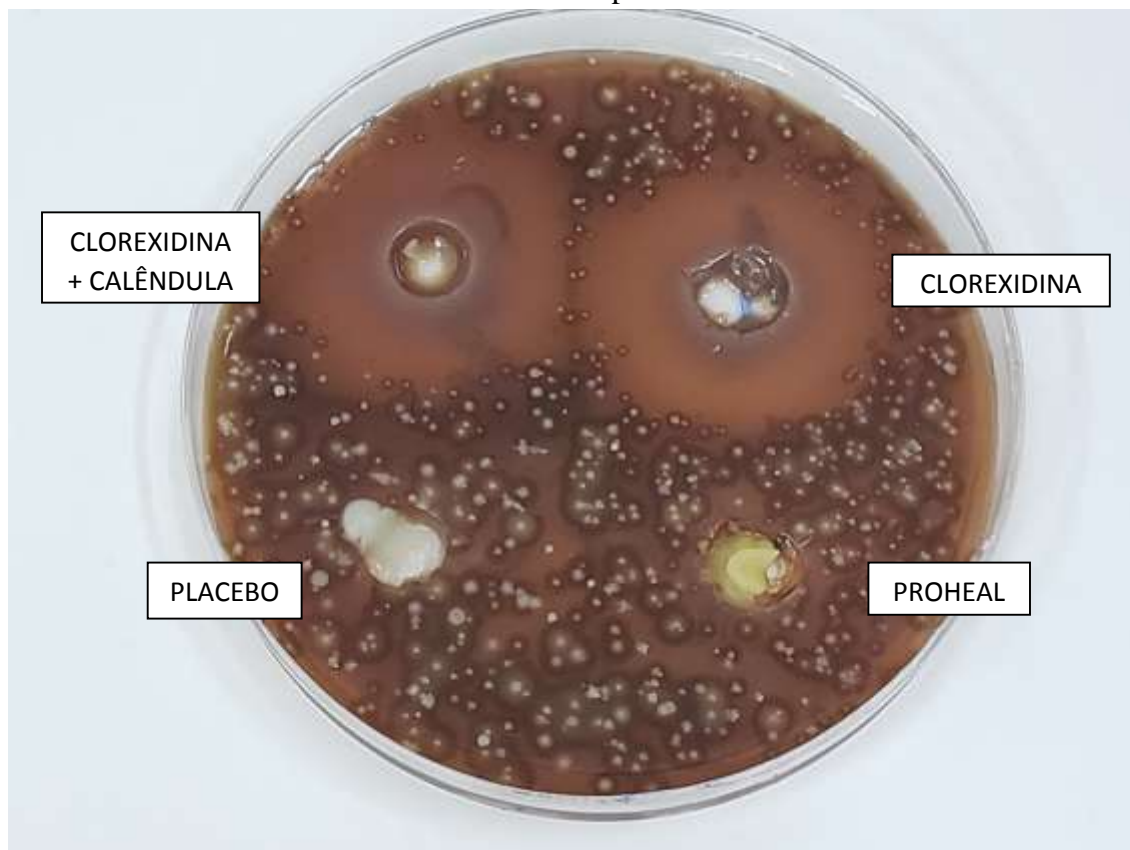
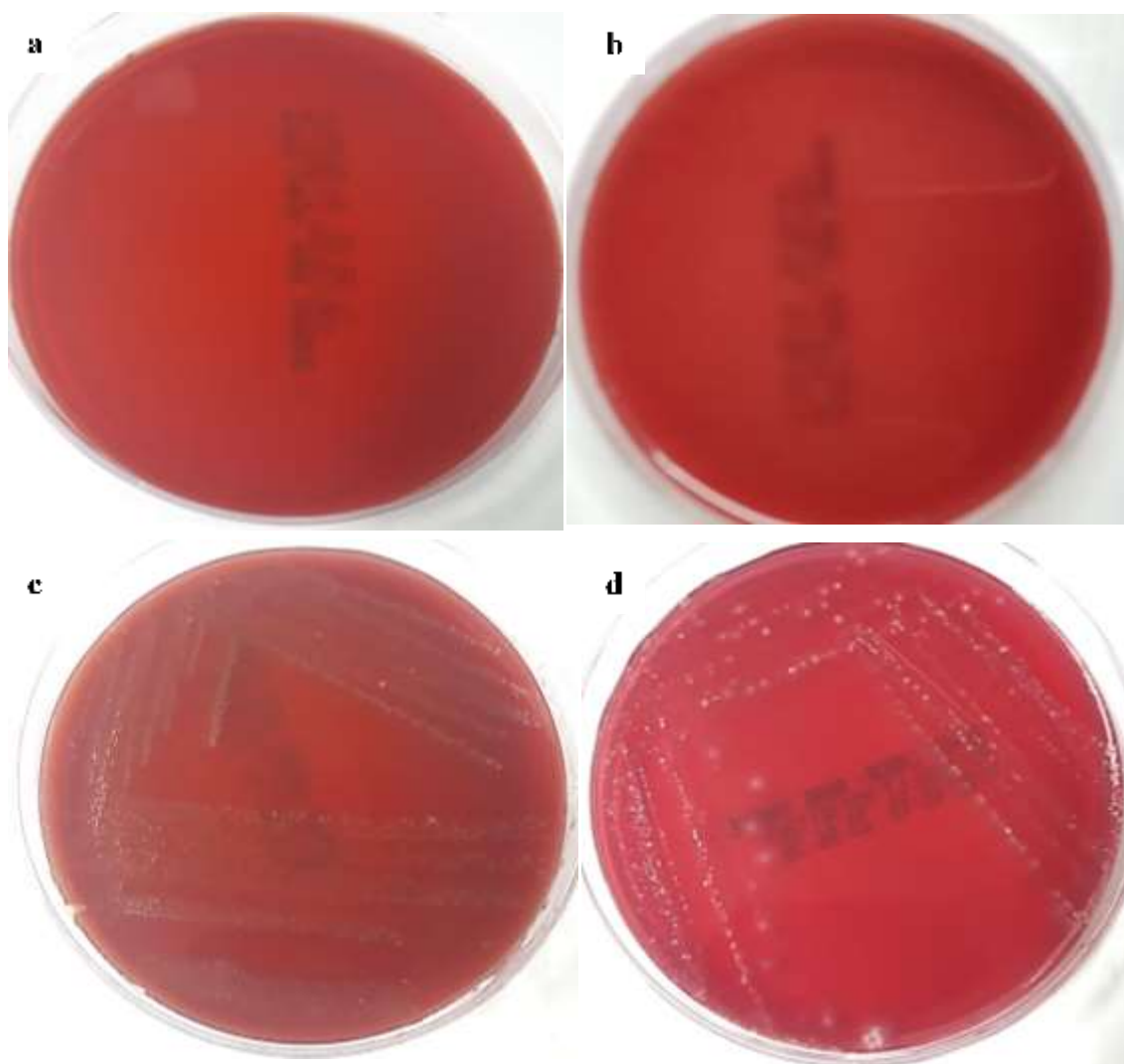


Tabela 4. Média e desvio-padrão da contagem de unidade formadoras de colônia em anaerobiose após incubação com os produtos teste em caldo.

Produto	Média de UFC	Desvio padrão	Valor de p*
Clorexidina	0	-	
Clorexidina + calêndula	0	-	0,02
Proheal	969,3	719,6	
Placebo	480,0	411,3	

* Teste Kruskal-Wallis.

Figura 7. Imagem de placa de petri após a incubação de 7 dias do caldo semeado.



a: clorexidina; b: clorexidina com calêndula; c: Proheal; d: placebo.

5.2. Resultados dos produtos combinados com os fios de sutura

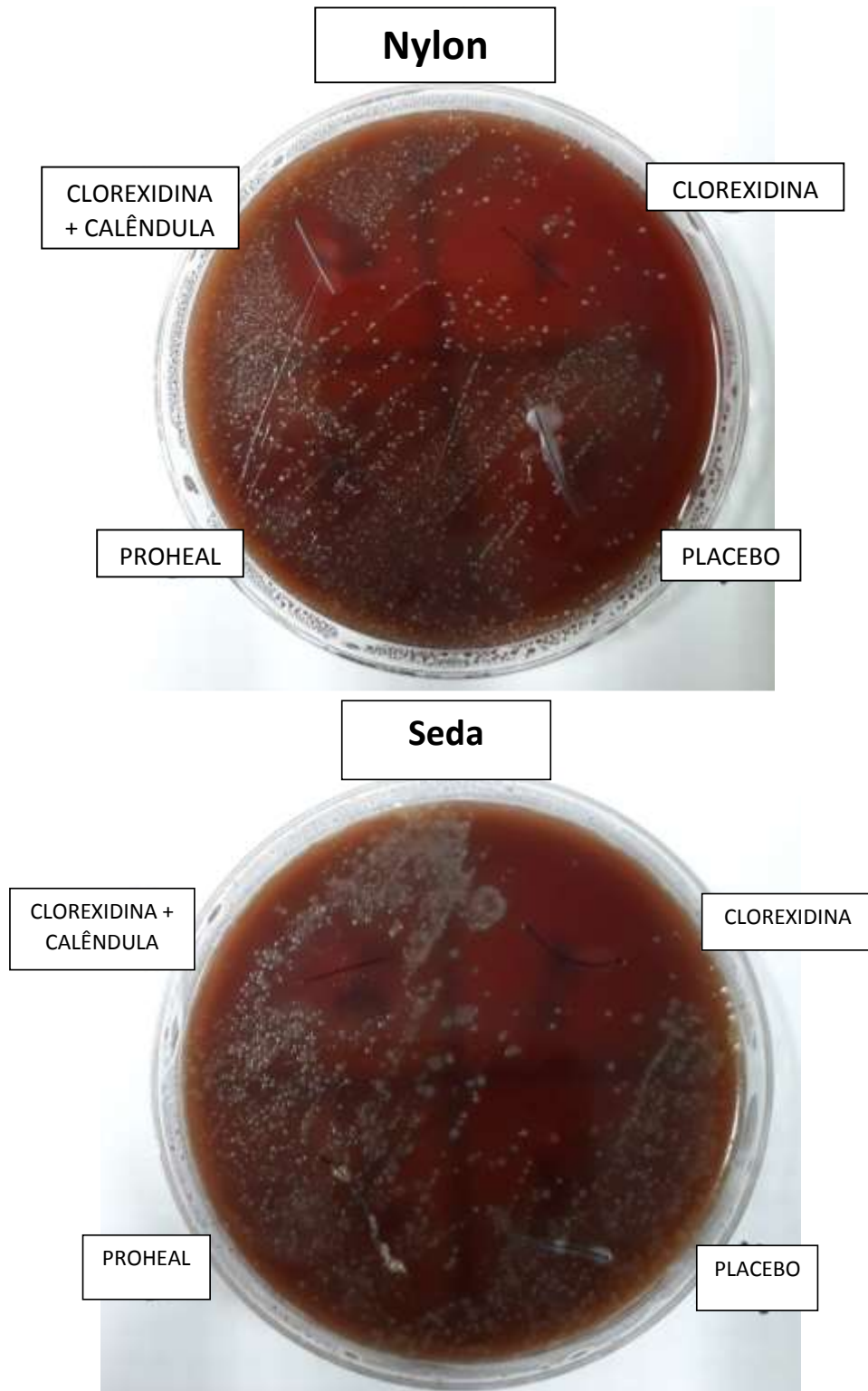
Os dados da Tabela 5 mostram os resultados obtidos após cultivo de saliva anaerobiose com os fios de sutura, nylon e seda, combinados com os produtos teste. Foi possível observar que houve inibição apenas nos produtos com clorexidina, sendo que Proheal e placebo não produziram nenhum halo de inibição, o que resultou em diferença significativa, sendo $p = 0,014$ em relação ao fio de nylon e $p = 0,024$ para o fio de seda. A contagem de UFC nos quadrantes das placas com os fios e produtos não apresentaram diferenças significativas para o fio de nylon. No entanto, houve diferença significativa quando se observa os achados para o fio de seda, demonstrando que Proheal apresentou os maiores valores de UFC ($p = 0,04$). Quando se comparam os valores encontrados para verificar diferenças entre os fios de sutura com o teste Mann-Whitney, observa-se que não houve diferenças significativas com relação ao tipo de fio, seda ou nylon. Estes resultados estão exemplificados na Figura 8.

Tabela 5. Médias e desvios-padrões dos dados encontrados em cultivo de saliva em anaerobiose com os fios de sutura de nylon e de seda cobertos com os produtos teste.

Parâmetros	Clorexidina	Clorexidina + calêndula	Proheal	Placebo	Valor de p*
<i>Diâmetro</i>					
Nylon	1,57 (0,24)	2,25 (0,11)	0	0	0,014
Seda	2,04 (0,38)	2,16 (0,69)	0	0	0,024
<i>UFC</i>					
Nylon	178,33 (12,09)	171,33 (55,52)	247,66 (83,57)	224,33 (59,80)	NS
Seda	165,33 (22,14)	127 (21,93)	280,66 (83,20)	192,66 (36,29)	0,040

UFC: unidade formadora de colônia. * Teste Kruskal-Wallis

Figura 8. Cultivo de saliva em ágar-sangue com fios de sutura, nylon e seda, combinados com os produtos teste.



6. Discussão

Os cuidados pós-operatórios fazem parte do sucesso do tratamento. Neste contexto, a obtenção de uma boa sutura garante parte do resultado esperado. Assim, diferentes fios de sutura combinados ou não com antissépticos vêm sendo estudados (CHU e WILLIAMS 1984; OTTEN et al. 2005, EDMISTON et al. 2006; BANCHE et al. 2007; MING et al. 2007; HARNET et al. 2009; MASINI et al. 2011; CRUZ et al. 2013; OBERMEIER et al. 2014; PELZ et al. 2015; ABHARI et al. 2017; ASHER et al. 2019; KARDE et al. 2019). Os resultados demonstraram que houve inibição completa do crescimento de bactérias da saliva quando os fios de sutura foram incubados com produtos com clorexidina. Por outro lado, os fios de sutura incubados com Proheal ou placebo apresentaram resultados similares tanto em aerobiose quanto em anaerobiose. Embora, estes dados sejam conflitantes com estudo prévio (CRUZ et al. 2013), que demonstra o efeito clínico antibacteriano de Proheal, quando usado para revestir fio de sutura. Entretanto, atenção deve ser dada à falta de controle positivo naquele estudo. Os autores utilizam como controle negativo sítios suturados sem aplicação de Proheal, quando o indicado seria usar a clorexidina associada ao fio de sutura, pois é considerada o antisséptico padrão-ouro para este tipo de desenho experimental (COELLO-GOMEZ et al. 2018), sendo usada como controle positivo.

O objetivo de se aplicar drogas antibacterianas topicamente na forma de recobrimento de suturas poderia ser um método efetivo de inibir a formação de biofilme e, assim, diminuir a necessidade de medicação sistêmica para controle de infecção (KARDE et al. 2019). Assim, o emprego de diferentes produtos antissépticos para impregnar fios de sutura tem sido explorado na literatura (EDMISTON et al. 2006; MING et al. 2007; HARNET et al. 2009; CRUZ et al. 2013; OBERMEIER et al. 2014; PELZ et al. 2015). No estudo de EDMISTON et al. (2006), avaliou a atividade anti-

séptica, e sua duração, de fios de sutura revestidos com triclosan. Os autores observaram uma média maior de níveis de bactérias gram-positivas e gram-negativas nos fios não revestidos com triclosan, o que demonstrou a eficácia do revestimento em inibir a atividade bacteriana *in vitro*. O efeito da impregnação de fios (Vycril e Vycril Plus) com triclosan foi testado em pacientes com necessidade de exodontia (PELZ et al. 2015). Após o período de pós-operatório a remoção de sutura foi realizada e estas suturas foram analisadas microbiologicamente. Os resultados demonstraram que não houve diferença entre os dois fios quanto ao tipo de bactéria isolada e sua quantidade.

O uso de clorexidina também tem sido investigado na impregnação de fios de sutura (HARNET et al. 2009; MATL et al. 2009; OBERMEIER et al. 2014). Em um estudo em que recobrimento de fios de sutura com triclosan e clorexidina indicam que os dois produtos apresentam a mesma capacidade antimicrobiana quando observada tanto clínica quanto microbiologicamente (KARDE et al. 2019).

Dez materiais diferentes de sutura, absorvíveis e não absorvíveis, sintético e natural, monofilamentado e multifilamentado, foram estudados a fim de se avaliar a adesão de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* aos mesmos (CHU e WILLIAMS 1984). Foi demonstrado uma menor tendência de adesão bacteriana em fios monofilamentados. Entretanto, não apenas isso deve ser levado em consideração quando se observam estes achados, pois a composição química e a hidrofilia promovida pelos materiais também são fatores que podem interferir neste adesão. Os autores ainda sugerem que o revestimento do material teria maior influência neste aspecto. Em outro estudo (MASINI et al. 2011), foi demonstrado que bactérias aderem mais a fio do tipo Vicryl comparado a monofilamento. Já no estudo de Fowler et al. (FOWLER et al. 2013), os autores discutem que não está claro se o aumento da aderência foi resultado do entrelaçamento das fibras do Vicryl, que são trançadas, ou do material em si, visto

que as suturas de seda estudadas foram semelhantes às suturas de monofilamento com relação à quantidade de bactérias aderidas. Em outro estudo, foi demonstrado que a colonização por *E. coli* foi menor no fio de sutura poliglactina 910 do que no fio de seda (HARNET et al. 2009). No presente estudo, não foram observadas diferenças entre os fio avaliados, nylon e seda, no que se refere aos resultados *in vitro* aqui obtidos. Entretanto, há indicação de que, clinicamente, ocorre menor acúmulo de placa em suturas de nylon comparadas à seda (HARNET et al. 2009).

É importante, tanto do ponto de vista biológico quanto do clínico, que se entenda como as bactérias orais se comportam frente aos biomateriais que fazem parte da rotina clínica odontológica. Assim, pode-se determinar melhores formas de prevenção e de infecção, pois tudo que é introduzido na cavidade oral se torna passivo de acumular biofilme. As análises *in vitro* não são as ideais para se testar o efeito antimicrobiano de antissépticos orais. Entretanto, estes experimentos são um ponto de partida importante como testar uma prova de princípio, antes de se estabelecer os benefícios clínicos diretamente no paciente. Os resultados do presente estudo indicam, entretanto, que não há indicação clínica do uso de Proheal com o objetivo de se obter um efeito antimicrobiano.

7. Conclusão

- O efeito antimicrobiano *in vitro* da pasta Proheal sobre microrganismos da saliva foi significativamente inferior ao observado com os produtos com clorexidina.
- O efeito antimicrobiano *in vitro* da pasta Proheal sobre microrganismos da saliva é praticamente inexistente.
- Os resultados observados para os fios de sutura, nylon e seda, foram semelhantes quando examinados com todos os produtos em estudo.

8. Referências bibliográficas

Abhari, R. E., J. A. Martins, H. L. Morris, P. A. Mouthuy and A. Carr (2017). "Synthetic sutures: Clinical evaluation and future developments." J Biomater Appl **32**(3): 410-421.

Asher, R., T. Chacartchi, M. Tandlich, L. Shapira and D. Polak (2019). "Microbial accumulation on different suture materials following oral surgery: a randomized controlled study." Clin Oral Investig **23**(2): 559-565.

Balamurugan, R., M. Mohamed, V. Pandey, H. K. Katikaneni and K. R. Kumar (2012). "Clinical and histological comparison of polyglycolic acid suture with black silk suture after minor oral surgical procedure." J Contemp Dent Pract **13**(4): 521-527.

Banche, G., J. Roana, N. Mandras, M. Amasio, C. Gallesio, V. Allizond, A. Angeretti, V. Tullio and A. M. Cuffini (2007). "Microbial adherence on various intraoral suture materials in patients undergoing dental surgery." J Oral Maxillofac Surg **65**(8): 1503-1507.

Barros, M., R. Gorgal, A. P. Machado, A. Correia and N. Montenegro (2011). "[Surgical basic skills: surgical sutures]." Acta Med Port **24 Suppl 4**: 1051-1056.

Below, H., O. Assadian, R. Baguhl, U. Hildebrandt, B. Jager, K. Meissner, D. J. Leaper and A. Kramer (2017). "Measurements of chlorhexidine, p-chloroaniline, and p-chloronitrobenzene in saliva after mouth wash before and after operation with 0.2%

chlorhexidine digluconate in maxillofacial surgery: a randomised controlled trial." Br J Oral Maxillofac Surg **55**(2): 150-155.

Chu, C. C. and D. F. Williams (1984). "Effects of physical configuration and chemical structure of suture materials on bacterial adhesion. A possible link to wound infection." Am J Surg **147**(2): 197-204.

Coello-Gomez, A., S. Navarro-Suarez, J. M. Diosdado-Cano, F. Azcarate-Velazquez, P. Bargiela-Perez, M. A. Serrera-Figallo, D. Torres-Lagares and J. L. Gutierrez-Perez (2018). "Postoperative effects on lower third molars of using mouthwashes with super-oxidized solution versus 0.2% chlorhexidine gel: A randomized double-blind trial." Med Oral Patol Oral Cir Bucal **23**(6): e716-e722.

Cruz, F., F. Leite, G. Cruz, S. Cruz, J. Reis, M. Pierce and M. Cruz (2013). "Sutures coated with antiseptic pomade to prevent bacterial colonization: a randomized clinical trial." Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol **116**(2): e103-109.

Edmiston, C. E., G. R. Seabrook, M. P. Goheen, C. J. Krepel, C. P. Johnson, B. D. Lewis, K. R. Brown and J. B. Towne (2006). "Bacterial adherence to surgical sutures: can antibacterial-coated sutures reduce the risk of microbial contamination?" J Am Coll Surg **203**(4): 481-489.

Faria, R. L., L. M. Cardoso, G. Akisue, C. A. Pereira, J. C. Junqueira, A. O. Jorge and P. V. Santos Junior (2011). "Antimicrobial activity of *Calendula officinalis*, *Camellia*

sinensis and chlorhexidine against the adherence of microorganisms to sutures after extraction of unerupted third molars." J Appl Oral Sci **19**(5): 476-482.

Fowler, J. R., T. A. Perkins, B. A. Buttaro and A. L. Truant (2013). "Bacteria adhere less to barbed monofilament than braided sutures in a contaminated wound model." Clin Orthop Relat Res **471**(2): 665-671.

Harnet, J. C., E. Le Guen, V. Ball, H. Tenenbaum, J. Ogier, Y. Haikel and C. Vodouhe (2009). "Antibacterial protection of suture material by chlorhexidine-functionalized polyelectrolyte multilayer films." J Mater Sci Mater Med **20**(1): 185-193.

Hermesch, C. B., T. J. Hilton, A. R. Biesbrock, R. A. Baker, J. Cain-Hamlin, S. F. McClanahan and R. W. Gerlach (1998). "Perioperative use of 0.12% chlorhexidine gluconate for the prevention of alveolar osteitis: efficacy and risk factor analysis." Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod **85**(4): 381-387.

Karde, P. A., K. S. Sethi, S. A. Mahale, A. S. Mamajiwala, A. M. Kale and C. P. Joshi (2019). "Comparative evaluation of two antibacterial-coated resorbable sutures versus noncoated resorbable sutures in periodontal flap surgery: A clinico-microbiological study." J Indian Soc Periodontol **23**(3): 220-225.

Managutti, A., S. A. Managutti, J. Patel and N. Y. Puthanakar (2017). "Evaluation of Post-surgical Bacteremia with Use of Povidone-Iodine and Chlorhexidine During Mandibular Third Molar Surgery." J Maxillofac Oral Surg **16**(4): 485-490.

Masini, B. D., D. J. Stinner, S. M. Waterman and J. C. Wenke (2011). "Bacterial adherence to suture materials." J Surg Educ **68**(2): 101-104.

Matl, F. D., J. Zlotnyk, A. Obermeier, W. Friess, S. Vogt, H. Buchner, H. Schnabelrauch, A. Stemberger and K. D. Kuhn (2009). "New anti-infective coatings of surgical sutures based on a combination of antiseptics and fatty acids." J Biomater Sci Polym Ed **20**(10): 1439-1449.

Medeiros, A. M., I. Araújo-Filho and M. D. F. Carvalho (2016). "Fios de sutura." JOURNAL OF SURGICAL AND CLINICAL RESEARCH **7**(2): 74-86.

Ming, X., M. Nichols and S. Rothenburger (2007). "In vivo antibacterial efficacy of MONOCRYL plus antibacterial suture (Poliglecaprone 25 with triclosan)." Surg Infect (Larchmt) **8**(2): 209-214.

Ming, X., S. Rothenburger and D. Yang (2007). "In vitro antibacterial efficacy of MONOCRYL plus antibacterial suture (Poliglecaprone 25 with triclosan)." Surg Infect (Larchmt) **8**(2): 201-208.

Mirkovic, S. and T. D. Mirkovic (2011). "[Influence of different types of surgical suture materials on mechanical damage of oral mucosa]." Med Pregl **64**(3-4): 157-160.

Obermeier, A., J. Schneider, S. Wehner, F. D. Matl, M. Schieker, R. von Eisenhart-Rothe, A. Stemberger and R. Burgkart (2014). "Novel high efficient coatings for anti-

microbial surgical sutures using chlorhexidine in fatty acid slow-release carrier systems." PLoS One **9**(7): e101426.

Otten, J. E., M. Wiedmann-Al-Ahmad, H. Jahnke and K. Pelz (2005). "Bacterial colonization on different suture materials--a potential risk for intraoral dentoalveolar surgery." J Biomed Mater Res B Appl Biomater **74**(1): 627-635.

Pelz, K., N. Todtmann and J. E. Otten (2015). "Comparison of antibacterial-coated and non-coated suture material in intraoral surgery by isolation of adherent bacteria." Ann Agric Environ Med **22**(3): 551-555.

Soares, U. N., I. Y. Ito and V. M. Barros (2001). "[Effect of antiseptic treatment of alveolar surgical wounds on bacterial growth on cotton suture threads]." Pesqui Odontol Bras **15**(1): 41-46.

Tuna, A., C. Delilbasi, A. Arslan, Y. Gurol and Z. Tazegun Tekkanat (2012). "Do antibacterial mouthrinses affect bacteraemia in third molar surgery? A pilot study." Aust Dent J **57**(4): 435-439.