



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE MATERIAIS DENTÁRIOS E PRÓTESE



JERONIMO MANÇO DE OLIVEIRA NETO

Controle químico das halitoses de origem bucal por meio
de enxaguantes bucais: avaliação por meio de
cromatografia gasosa

Ribeirão Preto

2014

JERONIMO MANÇO DE OLIVEIRA NETO

**CONTROLE QUÍMICO DAS HALITOSES DE ORIGEM BUCAL POR MEIO DE
ENXAGUANTES BUCAIS: AVALIAÇÃO POR MEIO DE CROMATOGRAFIA GASOSA**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo,
para a obtenção do título de Doutor no Programa
de Reabilitação Oral.

Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Pedrazzi.

VERSÃO ORIGINAL

Ribeirão Preto

2014

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO DO TEOR TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central do
Campus USP - Ribeirão Preto.

Oliveira-Neto, Jeronimo Manço de

Controle químico das halitoses de origem bucal por meio de enxaguantes bucais: avaliação por meio de cromatografia gasosa. Ribeirão Preto, 2014.

135p.: il.; 30 cm + 1 CD-ROM

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Orientador: Pedrazzi, Vinícius.

1. Halitose; 2. Enxaguantes bucais;
3. Compostos sulfurados voláteis; 4. Ensaio clínico;
5. Cromatografia gasosa.

FOLHA DE APROVAÇÃO

JERONIMO MANÇO DE OLIVEIRA NETO

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor.

Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora:

1) Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

4) Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Presidente da Banca: Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

A DEUS: Sempre presente em minha vida, concedendo oportunidades e me abençoando ao colocar pessoas que me fazem aprender sempre!

À minha família: Sinônimo de amor incondicional, apoio.

Em nome dos meus pais **Valter e Maria** e minha irmã **Athina** que sempre me orientam e apoiam em minhas idealizações e almejam a minha felicidade. Pela virtude de me conduzir sempre pelo caminho da honestidade e respeito. Pelo exemplo de retidão, humildade, dedicação. Pelas pessoas simples e sábias nas quais tento me espelhar. Que Deus os conceda sempre saúde! Sou eternamente grato a vocês, minhas maiores referências.

Aos voluntários desta pesquisa: Pessoas incríveis que se prontificaram para contribuir com a pesquisa em saúde. Pela confiança em meu trabalho, pela solicitude e, acima de tudo, pela colaboração em benefício do bem comum.

Em especial: Rodrigo Gaudereto Alvim (*in memoriam*), **Leandro Casagrande Ikuma e Paulo Henrique Oliveira e ao Prof. Dr. Amadeu Rodrigues da Silva Júnior**, pela amizade, admiração e pelas pessoas especiais que são.

A todos vocês, dedico este trabalho

Agradecimento Especial

Ao meu amigo e orientador **Prof. Dr. Vinícius Pedrazzi**, a quem devo o mérito de grande parte desse trabalho, pela competência, dedicação e paixão à Odontologia e ao ensino. Professor pelo título, mas também em sua essência, e com todos os significados que o termo lhe deixa designar. A convivência contigo é uma experiência enriquecedora, pelo conhecimento e, principalmente, aos seus valores éticos, morais e humanos. Sua paciência, capacidade, humildade, bom humor, patriotismo e religiosidade te tornam admirável. Serei sempre grato pela oportunidade e a honra de trabalharmos juntos e por ter aprendido de modo tão intenso. O amadurecimento, o aprendizado e a humildade em reconhecer as falhas e saber superá-las me tornam uma pessoa melhor.

Agradeço a Deus pela benção de nossa amizade e pelo amparo que isso nos traz.

Ensinamentos e valores que jamais serão esquecidos e uma amizade que nunca minguará. Hoje já não tenho mais o que pedir. Só a agradecer. MUITO OBRIGADO, VINÍCIUS.

Agradecimentos

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo**, da qual muito me orgulho e considero minha segunda casa pela formação profissional e acadêmica, nas pessoas do Diretor **Prof. Dr. Valdemar Mallet da Rocha Barros** e do Vice-Diretora **Profa. Dra. Profa. Dra. Léa Assed Bezerra da Silva**;

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** pela bolsa de estudo (143061/2011-9) concedida para a realização deste trabalho;

Aos **docentes do Departamento de Materiais Dentários e Prótese da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto**, e nas pessoas da chefe de Departamento **Profa. Dra. Profa. Dra. Cláudia Helena Lovato da Silva** e da Vice-chefe **Profa. Dra. Valéria Oliveira Pagnano de Souza**, pela contribuição e incentivo à docência e à pesquisa, tão necessária e fundamental para minha formação e evolução acadêmica e profissional.

À coordenadora do curso de pós-graduação em Reabilitação Oral **Prof. Dra. Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza** e à Suplente da Coordenadora: **Profa. Dra. Rossana Pereira de Almeida Antunes**, sempre solícitas, compreensíveis e dedicadas à busca da excelência do programa e do desenvolvimento dos alunos.

À **Profa. Dra. Alma Blásida C. E. B. Catirse** e **Profa. Maria da Glória Chiarello de Mattos**, pelo incentivo, pelo apoio e pela ajuda na busca de voluntários para a pesquisa.

Aos **queridos amigos do doutorado**. Pela amizade construída nesse período de convivência. Por compartilharem comigo de seu conhecimento e apoio. Vocês seguramente fazem parte dessa vitória.

À **grande amiga e Profa. Dra. Maria Cristina Borsatto**, pessoa que admiro e respeito por sua fantástica capacidade profissional. Sempre grato pelos valiosos conselhos, ensinamentos, confiança e o incentivo que me são dados para o constante aprimoramento de professor e pesquisador. E, acima de tudo, agradeço por sua amizade e carinho.

À querida **amiga e Profa. Dra. Efigênia Ferreira e Ferreira**, pela amizade e por me estimular em progredir na pós-graduação.

A todos os **voluntários que participaram desse estudo**, a vocês o mérito da conclusão do experimento, pela magnífica contribuição e concretização desse sonho. Por acreditar no meu trabalho em prol do progresso científico.

A todos meus **familiares, primos, tios, avós e todos os amigos** que considero muito e sei que torcem pelo meu sucesso.

A todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, em especial à **Regiane de Cássia Tirado Damasceno, Ana Paula Xavier, Fernanda Talita de Freitas, Regiane Cristina Moi Sacilotto, Isabel Cristina Galino Sola e Mary Possani Carmessano, Silvia Helena Fabris Flausino de Campos, José Aparecido Neves do Nascimento, Sueli Cooke Militello, José Galvão da Silva, Benedito Aparecido Silva, Osvaldo Aparecido Pinheiro, Renata Aparecida Fernandes, Fátima Aparecida Rizoli, Ditinha, Fernando Henrique Torrieri Codognotto, Nadir Gardim Felicio, Maria Madalena Gardim, Mariangela de Oliveira**, por todo auxílio, pela prestatividade, companheirismo e amizade

Aos queridos amigos **Marco Aveiro, Alexandre Saponi, Fabio Aguiar, Isadora Poscidonio, Álvaro Junqueira, Lourenço Roselino, Rafael Dias, Alexandre Sicchieri Neto, Felipe Sehn, Fabrício Bianchi, Eduardo Bernardes, Rodrigo Valério, Luis Henrique Pedroso e Silva, Rodrigo Galo, Claudia Cristina Barbosa, Sandra Sato, Denise Pupim, Adriana Ribeiro, Jéssica Carvalho, Milena Irie, Franciana Berzoti, Gabriela Jayme, Isabela Mirales, Gabriela Queiroz, Fernanda Liévana, Aline Mori, Isabela de Oliveira**, agradeço a ajuda, a convivência, o companheirismo, a amizade e a compreensão.

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP**, por toda a formação intelectual e pessoal oferecida nestes anos todos;

Aos amigos do pedal da Equipe Capivara, **Pagotto, Carol, Valdir, Cleide, Pati, Carlão, Fábio, Isadora, Allue, Renata, Aline, Bauer, Carla, Clayton, Diego Seleguim, Dora, Flávia, Guilherme, Helena, Marília, Edson, Diego, Clarissa, Luana, Wesley, Mateus, Poly, Ricardo Sapão, Thiago...** e que a cada dia aumenta, que a gente tenha sempre novas trilhas, aventura, superação, natureza e que nessa amizade a gente sempre encontre **#ForçaNasCoxinhas!**

Aos meus padrinhos **Antônio e Rosângela** (*in memoriam*), **Larissa e Priscila, vô Marcolina e vô Cláudio** por todo apoio e dedicação em minha formação pessoal e pelo exemplo de pessoas que são.

À empresa **Oral-B** em nome de **Maria Aparecida Affonso**, por ter cedido, gentilmente, as escovas dentais para a realização deste trabalho;

Por todo suporte a mim oferecido durante o curso e pelo carinho constante e bons momentos compartilhados.

A todos que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

OLIVEIRA-NETO JM. Controle químico das halitoses de origem bucal por meio de enxaguantes bucais: avaliação por meio de cromatografia gasosa. Ribeirão Preto, 2014. 135p. Tese (Doutorado em Reabilitação Oral). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

RESUMO: O sulfeto de hidrogênio (H_2S) foi recentemente conhecido como um gasotransmissor muito importante com função neuroprotetora, antioxidante, anti-inflamatória, vasodilatadora, antiapoptótica e angiogênica, tanto em condições fisiológicas quanto patológicas. Quando metilado, produz metanotiol (CH_3SH), e ambos constituem os gases mais ofensivos e responsáveis pela halitose de origem intraoral. Objetivos: Este ensaio clínico cruzado avaliou a eficácia de enxaguantes à base de clorexidina (CHX) ou óleos essenciais (OE) na redução de níveis de H_2S e CH_3SH . Métodos: 21 indivíduos adultos (8 homens, 13 mulheres) foram aleatoriamente alocados em um estudo cruzado de 4 períodos. Quatro enxaguantes foram testados: Periogard® com álcool (controle positivo) (CHXc/a) e sem álcool (CHXs/a); ListerineTotal® (OEc/a) e ListerineZero™ (OEs/a), dispostos em quatro sequências de uso. Todos os voluntários foram convidados a abster-se de higiene oral por um período de 12 horas para os escores basais. Cada produto foi usado uma só vez, seguido por um período de *washout* de uma semana. O hálito foi medido por aparelho de cromatografia gasosa portátil-OralChroma™ antes e 1, 2 e 3 horas depois do bochecho. A análise exploratória de dados, através de medidas de localização central e de dispersão foi realizada. As comparações das médias das variáveis foram feitas pelo modelo de efeitos mistos linear para dados longitudinais, utilizando PROC MIXED do software SAS ® 9.2. Resultados: Em comparação com os níveis basais, na primeira hora, apenas OEc/a foi capaz de reduzir significativamente o hálito (H_2S $p < 0,0001$ e CH_3SH $p = 0,001$) para ambos os gases e o seu efeito durou até três horas (H_2S $p < 0,0001$ e CH_3SH $p = 0,001$). CHXc/a (controle) reduziu o H_2S na primeira hora ($p = 0,001$) e durou três horas (H_2S $p < 0,0001$) sem efeito sobre o CH_3SH . CHXs/a apenas reduziu os níveis de H_2S , mas com menos eficácia em todo o período ($p = 0,001$ para as 3 vezes). OEs/a não teve efeito no hálito, que aumentou com o tempo para ambos os gases. Conclusão: O OEc/a apresentou melhor desempenho em relação à halitose intraoral, seguido pelo controle CHXc/a e CHXs/a.

Palavras-Chaves: Halitose, Enxaguantes bucais, Compostos sulfurados voláteis, Ensaio clínico, Cromatografia gasosa.

Agradecimentos: **CNPq (143061 / 2011-9)**

ABSTRACT

OLIVEIRA-NETO JM. Effect of mouthrinses on halitosis: randomized crossover controlled trial, 2014. 135p. Tese (Doutorado em Reabilitação Oral). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

ABSTRACT: Hydrogen sulfide (H_2S) is recently known as a very important gasotransmitter with neuroprotectant, antioxidant, anti-inflammatory, vasodilator, angiogenic and antiapoptotics functions both in physiological and pathological conditions. When methylated, produces methanethiol (CH_3SH), and both are the most offensive gases responsible for intra-oral halitosis. This crossover clinical trial evaluated the effectiveness of chlorhexidine (CHX) or essential oils (EO) based mouthrinses for reduction of H_2S and CH_3SH levels. 21 adult subjects (8 male, 13 female) were randomly allocated into a four period crossover trial. Four mouthrinses were tested: Periogard® with alcohol (positive control) (CHXw/a) and without alcohol (CHXn/a); ListerineTotal® (EOw/a) and ListerineZero™ (EOn/a) arranged into four sequences of use. All the volunteers were asked to refrain from oral hygiene for a 12-hours period for baseline scores. Each product was used at once, followed by a one-week washout period. The breath was measured by portable gas chromatograph OralChroma™ before rinsing and after 1, 2 and 3 hours. Exploratory analysis of data through measures of central location and dispersion was performed. Comparisons of the means of the variables were made by linear mixed effect model for longitudinal data by using PROC MIXED from SAS® 9.2 software. Compared to the baseline, at the first hour, only EOw/a was able to significantly reduce the breath (H_2S $p<0.0001$ and CH_3SH $p=0.001$) for both gases and its effect lasted for up to three hours (H_2S $p<0.0001$ and CH_3SH $p=0.001$). CHXw/a(control) reduced H_2S at the first hour ($p=0.001$) and lasted for three hours (H_2S $p<0.0001$) without effect on CH_3SH . CHXn/a just reduced H_2S levels but less effectively at the whole period ($p=0.001$ for the 3 times). EOn/a had no effect on breath, which increased with time for both gases. The EOw/a presented the best performance against intra-oral halitosis followed by the control CHXw/a and CHXn/a.

Keywords: Halitosis, mouthrinses, gas chromatography, Crossover clinical trial.

Acknowledgment: CNPq (143061/2011-9)

LISTA DE ABREVIações E SÍMBOLOS

H ₂ S –	Sulfeto de hidrogênio
CH ₃ SH –	Metil-mercaptano ou Metanotiol
CHX –	Clorexidina
OE –	óleo essencial
CHXc/a –	clorexidina com álcool
CHXs/a –	clorexidina sem álcool
OEc/a –	Óleo essencial com álcool
OEs/a –	Óleo essencial sem álcool
EO –	Essential Oil
CHXw/a –	Chlorhexidine with alcohol
CHXn/a –	Chlorhexidine no alcohol
EOw/a –	Essential Oil with alcohol
EO n/a –	Essential Oil no alcohol
CSV –	Composto Sulfurado Volátil
ppb –	partes por bilhão
ppm –	partes por milhão
NO –	Óxido Nítrico
CO –	Monóxido de Carbono
CSVs –	Compostos Sulfurados Voláteis
μM –	micromolar
CBS –	cistationa β-sintase
CSE –	cistationina γ-liase
3-MST –	3-mercaptopiruvato enxofre transferase
CH ₃ SCH ₃ –	Dimetil-Sulfeto
H ₀ –	Hipótese nula

H ₁ –	Hipótese 1
H ₂ –	Hipótese 2
H ₃ –	Hipótese 3
H ₄ –	Hipótese 4
ADA –	American Dental Association
CG –	Cromatografia Gasosa
USP –	Universidade de São Paulo
CEP –	Comitê de Ética em Pesquisa
CNPq –	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico 35 FORP-USP – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
(CH ₃) ₂ S –	Dimetil-sulfeto
mL –	mililitro
ng/10mL –	nanograma por 10 mililitro
ppbv –	partes por bilhão por volume
mm –	milímetro
var –	variância
N –	tamanho amostral
IC 95% –	O intervalo de confiança no nível 95% (95% IC)
LI –	Limite inferior
LS –	Limite superior
MM –	metil-mercaptano

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1. Escalas organolépticas recomendadas para o dentista em geral.	53
Tabela 2. Enxaguantes testados quanto à eficácia na redução da emissão de compostos sulfurados voláteis	56
Quadro 1. As colunas representam os períodos e as linhas representam as sequências de uso dos produtos.....	57
Quadro 2. Valores dos CSVs e o correspondente grau de odor do hálito	59
Tabela 3. Resumo das medidas em cada tempo e cada enxaguante.	65
Tabela 4. Comparações entre as sequências independente dos tempos para ambos os compostos.	67
Tabela 5. Comparações entre os produtos independente dos tempos pra os compostos H ₂ S e CH ₃ SH.	68
Tabela 6. Comparação dos CSVs entre os períodos <i>baseline</i> de cada produto.....	69
Tabela 7. Comparações entre os enxaguantes para a primeira hora	70
Tabela 8. Comparações entre os enxaguantes para a segunda hora	70
Tabela 9. Comparações entre os enxaguantes para a terceira hora.	71
Tabela 10. Comparações entre os tempos para o enxaguante A.....	72
Tabela 11. Comparações entre os tempos para o enxaguante B.....	72
Tabela 12. Comparações entre os tempos para o enxaguante C.....	73
Tabela 13. Comparações entre os tempos para o enxaguante D.....	73
Tabela 14. Comparação dos entre os períodos <i>baseline</i> de cada produto.....	74
Tabela 15. Comparações entre os enxaguantes para a primeira hora.	75
Tabela 16. Comparações entre os enxaguantes para a segunda hora	75

Tabela 17. Comparações entre os enxaguantes para a terceira hora.....	76
Tabela 18. Comparações entre os tempos para o enxaguante A	76
Tabela 19. Comparações entre os tempos para o enxaguante B	77
Tabela 20. Comparações entre os tempos para o enxaguante C	77
Tabela 21. Comparações entre os tempos para o enxaguante D	78

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Enxaguantes com etiquetas nos frascos e sobre as tampas originais. Copo medidor graduado de 15mL com etiqueta de identificação de seu respectivo produto no fundo (externo).....55
- Figura 2.** Seringa inserida na boca do paciente, com o cuidado de não tocar língua nem palato, o êmbolo é puxado 4 a 5 vezes e então a seringa removida da boca (caso haja saliva é limpa com papel toalha) e a agulha acoplada para ser inserida no receptor do equipamento. A amostra é injetada e a análise de 8 minutos iniciada pelo aparelho Cromatógrafo gasoso portátil - OralChroma™ (FIS Inc, Itami, Japão).....58
- Figura 3.** a. Traçado da análise dos gases de acordo com o tempo b. Gráfico resultante da análise.61
- Figura 4.** Gráfico de linha das variáveis em estudo em relação ao tempo, em cada enxaguante. A linha horizontal pontilhada representa os valores mínimos detectáveis ao olfato humano, sendo 112ppb para o H_2S e 26ppb para o CH_3SH66

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	29
2 PROPOSIÇÃO	39
3 JUSTIFICATIVA.....	43
4 MATERIAL E MÉTODO.....	49
4.1 Seleção dos Participantes	49
4.2 Anamnese	50
4.3 Avaliação Organoléptica.....	52
4.4 Desenho do Estudo	53
4.5 Fase pré-experimental.....	54
4.6 Produtos avaliados	55
4.7 Método experimental	56
4.8 Mensuração dos Compostos Sulfurados Voláteis	57
4.9 Análise dos dados	62
5 RESULTADOS.....	65
5.1 Comparação dos valores baseline do H ₂ S e do CH ₃ SH para cada enxaguante	68
5.2 Análise dos compostos.....	69
5.2.1 Análise do H ₂ S	69
5.2.1.1 Análise em cada tempo	69
5.2.1.1.1 Primeira hora:.....	69
5.2.1.1.2 Segunda hora.....	70
5.2.1.1.3 Terceira hora	71
5.2.1.2 Comportamento de cada enxaguante ao longo das 3 horas	71
5.2.2 Análise do CH ₃ SH	73
5.2.2.1 Análise dos tempos	74
5.2.2.1.1 Primeira hora.....	74
5.2.2.1.2 Segunda hora.....	75
5.2.2.1.3 Terceira hora	76
5.2.3 Comportamento de cada enxaguante ao longo das 3 horas	76

6. DISCUSSÃO	83
6.1 Comparações dos valores do <i>baseline</i> para H ₂ S e CH ₃ SH de cada enxaguante	85
6.2 Análises dos compostos	86
6.2.1 Análise do H ₂ S	86
6.2.1.1 Análise em cada tempo	86
6.2.1.1.1 Primeira hora	86
6.2.1.1.2 Segunda hora	87
6.2.1.1.3 Terceira hora	88
6.2.1.2 Comportamento de cada enxaguante ao longo das 3 horas	88
6.2.2 Análise do CH ₃ SH	91
6.2.2.1 Análise dos tempos	91
6.2.2.1.1 Primeira hora	91
6.2.2.1.2 Segunda hora	92
6.2.2.1.3 Terceira hora	92
6.2.3 Comportamento de cada enxaguante ao longo das 3 horas	92
 7 CONCLUSÕES	 97
 8 REFERÊNCIAS	 101
 9 APÊNDICES	 115
Apêndice A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ao Paciente e Carta Convite	115
Apêndice B: Questionários de saúde geral, dental e de halitose	118
 10 ANEXOS	 127
Anexo A: Report estatístico	127
Anexo B: Aprovação do projeto e relatório parcial na Plataforma Brasil	134
Anexo C: Importa Fácil Ciência	135

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A halitose é uma condição desagradável tanto para o portador como para as pessoas com as quais ele se relaciona por ser causa de uma restrição social e até poder precipitar uma neurose. Pode representar uma condição de doença sistêmica ou local e, assim, auxiliar no diagnóstico de tais doenças (1, 2). Até mesmo os dentistas devem estar atentos aos seus próprios odores bucais por uma questão de educação e delicadeza profissional (3).

Estima-se que 87% a 90% dos casos de halitose sejam provenientes da cavidade bucal, sendo a saburra lingual juntamente com a doença periodontal os seus principais fatores causais (4, 5). Para as causas extraorais, o nariz é responsável por 5% a 10% dos casos, seguido pelas tonsilas com 3%, sendo que menos de 1% dos casos tem origem abaixo da região das tonsilas (4, 6-12).

A halitose pode não ser percebida pela própria pessoa de forma que nem sempre o portador se dá conta da causa de seu isolamento e da necessidade de tratá-la (13, 14). A incapacidade de avaliar o próprio hálito decorre da adaptação olfatória ou fadiga olfativa (15).

Quando o odor é constante, o bulbo olfativo se impregna e por fadiga olfativa deixa de senti-lo. Assim portadores crônicos são incapazes de dizer se possuem mau hálito enquanto que pessoas sem hálito perceptível podem imaginar que o possuem, ou vivem com o medo de tê-la desencadeando, inclusive, desordens de ordem psicológica (16).

Isso se torna um dos maiores desafios para o seu diagnóstico ou sua identificação por um teste seguro. O diagnóstico preciso é ponto primordial para o correto tratamento. Com esse objetivo, um dos primeiros métodos para diagnóstico da halitose utilizava meios subjetivos como o teste organoléptico, que ainda hoje é

tido como padrão ouro. Nesse teste, o hálito é avaliado pelo olfato de um ou mais examinadores.

Apesar da simplicidade do teste e da sensibilidade do olfato humano, há dificuldade na padronização dos resultados obtidos por estes devido a sua subjetividade (17, 18).

Com o objetivo de padronizar os resultados foram construídos os monitores de sulfetos como o Halimeter[®](9), aparelho portátil que mede a concentração dos compostos sulfurados voláteis totais (CSV) em partes por bilhão (ppb).

A saburra lingual, por ser uma massa bacteriana formada por células epiteliais descamadas, proteínas salivares e restos proteicos alimentares metabolizados por bactérias proteolíticas, origina compostos de odor desagradável chamados de compostos sulfurados voláteis (CSVs) (11, 12, 19), como o sulfeto de hidrogênio (H_2S), o metil-mercaptano (CH_3SH) (20, 21) e dimetil-sulfeto ($CH_3)_2S$ (22).

Também denominados de odorivetores, os CSVs possuem características próprias na fisiologia de animais e um comportamento marcadamente explorado pela ciência nos últimos 15 anos.

O sulfeto de hidrogênio (H_2S) é um gás incolor, inflamável e solúvel em água caracterizado pelo odor de ovos podres. Há mais de 200 anos suas ações tóxicas e poluentes são conhecidas pela exposição de trabalhadores em ambientes com altos níveis de H_2S (com concentrações máximas permitidas de 10ppm por 10 minutos e interdição acima de 50ppm) e está na mesma ordem de magnitude de toxicidade dos cianetos, podendo levar injúrias aos olhos, pulmões, paralisia, coma ou até morte em minutos (se acima de 1000ppm) (23-26).

Em um claro contraste com sua imagem tóxica, nos últimos 20 anos, juntamente com o óxido nítrico (NO) e o monóxido de carbono (CO), o H_2S forma um

grupo fisiologicamente importante de gasotransmissores que compartilham de uma vasta gama de propriedades físicas e fisiológicas: são pequenas moléculas gasosas, capazes de penetrar livremente pelas membranas celulares e não dependem de receptores de membrana para atuar como sinalizadores celulares; são todos produzidas endogenamente pelo corpo e parecem exercer funções biológicas semelhantes.

O papel benéfico do H_2S tem sido relatado pela sua capacidade de promover vasodilatação, angiogênese e função cardioprotetora (27), regulação antioxidante, modulação da inflamação (28) e do estresse oxidativo, ser neuroprotetor, neuromodulador e ativar vias antiapoptóticas (29). Na doença de Alzheimer, foi encontrado no cérebro uma concentração de H_2S severamente diminuída o que levou à teoria de que o H_2S pode ser um fator limitante para o desenvolvimento desta doença (30).

Ainda foram relatadas propriedades de regulação de tônus da musculatura lisa que causa ereção do pênis, apresentando possíveis novas oportunidades de terapia para a disfunção erétil (31). Age no metabolismo, crescimento e migração celular, além de regulação da função renal e na remodelação da matriz celular (32, 33). Também há relatos da inibição do desenvolvimento de câncer em vários estágios (34).

Essa dicotomia entre toxicidade e proteção depende das concentrações nos tecidos, no método de distribuição do gás e no sistema em particular (respiratório, renal, neural, por exemplo) ou no modelo de doença estudado (24, 25, 28, 34).

Como exemplo, o H_2S pode ser observado como protetor de células em situações de estresse oxidativo quando suas concentrações variam entre 25 e 250 μM (35), enquanto concentrações entre 200 e 500 μM tem evidenciado apoptose

em células da musculatura lisa da aorta humana. Em geral é possível salientar a associação de concentrações de poucos micromolares com fator citoprotetor, enquanto maiores concentrações de exposição tendem a ser citotóxicas (28).

Basta dizer que o excesso de H_2S causaria a extinção da vida, mas sem a vida útil do gás não há sobrevivência (36).

Sabe-se que bactérias anaeróbias gram-negativas são responsáveis pela produção dos compostos sulfurados voláteis, principalmente sobre o epitélio lingual, em áreas mais profundas das papilas. Entretanto, o próprio organismo pode ser gerador desse composto em concentrações de pequena grandeza que circulam pelos vários tecidos que não somente os da boca.

Estudos experimentais revelam que o H_2S é produzido em quantidades nano a micro molares de maneira tanto enzimática quanto não-enzimática (37). Pela via não enzimática esse composto pode se formar por meio de moléculas de tióis ou moléculas contendo tióis (23).

A produção enzimática contínua é crítica devido a meia-vida biológica muito curta da molécula (estimada entre alguns segundos a minutos). Pela via enzimática é gerado por três enzimas cistationa β -sintase (CBS), cistationina γ -liase (CSE) e 3-mercaptopiruvato enxofre transferase (3-MST) (35). Contudo, a distribuição e a função de CBS, CSE, e 3-MST em condições fisiológicas normais permanecem controversas e obscuras (23).

O H_2S é uma molécula muito lábil que sofre rapidamente catabolismo de várias maneiras.

- Ele pode interagir com tiol S-metiltransferase, levando à sua metilação e à formação de metanotiol (ou metil-mercaptano) e, com mais uma metilação, ao dimetil-sulfeto.

- Uma vez desprotonado, o H_2S é rapidamente oxidado na mitocôndria para formar tiosulfato (conversão não-enzimática) que é, em última instância, convertido em sulfito e sulfato.
- O tiosulfato pode também interagir com meta-hemoglobina, formando sulfa-hemoglobina para a eliminação do composto de enxofre (27, 38).

O H_2S tem uma elevada afinidade para a hemoglobina, o que resulta numa profunda limpeza. Um dos grandes desafios para o estudo desse gás sob condições *in vivo*, é a meia-vida extremamente curta desta molécula efêmera; Estima-se que entre segundos a minutos (enquanto pode perdurar por 12 a 37 horas no ar) (36, 39, 40).

O metanotiol também denominado de metil-mercaptano (CH_3SH) é o outro odoriveter responsável pela halitose de origem intrabucal enquanto que o dimetil-sulfeto está presente no metabolismo do enxofre via sanguínea com eliminação pelas vias aéreas. Dessa forma, a respiração fica viciada, com odor por via nasal, perceptível ao ser exalado pelo nariz (41).

A metilação é outra via catabólica de H_2S . Enquanto sua oxidação ocorre principalmente nas mitocôndrias, a metilação ocorre principalmente no citoplasma. A metilação gera metanotiol (CH_3SH). Curiosamente, metanotiol também é um gás incolor com um cheiro podre de repolho. Metanotiol pode ser ainda mais metilado, embora muito mais lentamente, para dimetil-sulfeto (CH_3SCH_3), um composto relativamente não-tóxico. Tiol S-metiltransferase (TSMT) catalisa estes dois passos (36, 42).

O processo de metilação tem sido descrito como uma reação de desintoxicação do organismo catalisada pelo tiol S-metiltransferase(43). Outra via de eliminação dos compostos sulfurados pode ocorrer por meio de oxidação em

tiosulfato e sulfato, que são metabólitos não voláteis (26). Esse processo é denominado de desmetilação, pela perda do radical metila da molécula.

Dada a importância da participação do H_2S ao processo fisiológico e considerando que valores acima de 112ppb desse gás podem ser detectados pelo olfato humano com um odor desagradável, assim como o metanotiol, é de bom senso que se objetive a eliminação ou redução desses compostos no hálito por vias locais, com uso de produtos na cavidade bucal, sem que haja interferência sistêmica.

As estratégias para controlar o mau hálito estão relacionadas com o controle do crescimento de bactérias, principalmente as proteolíticas, e envolve a limpeza de dentes e língua em combinação com o uso de agentes antimicrobianos (44). Logo, uma variedade de produtos tem sido utilizada na tentativa de inibir ou mascarar o mau odor bucal, incluindo higienizadores de língua, agentes em gomas de mascar, enxaguantes e dentifrícios.

A limpeza da língua tem sido defendida com o intuito de combater a halitose e reduzir a reinfecção de nichos periodontais, pela eliminação da saburra lingual e/ou redução da putrefação por bactérias (45). Instrumentos específicos ou escovas dentais têm sido rotineiramente utilizados para remoção do biofilme da língua e melhorar o hálito. A distribuição de um agente antimicrobiano via dentifrício pode não ser tão eficiente na redução da halitose intraoral quanto a de um enxaguante (44)

A principal preocupação que leva ao uso frequente de enxaguantes é a halitose (46). De acordo com Loesche, em 1999, (47), os primeiros ensaios clínicos com enxaguante contra o mau odor foram projetados com uma pretensão cosmética (48-53).

Portanto, pesquisas recentes apontam a relevância de estudos comparativos para verificar a real eficácia do uso de bochechos (54-56). Indivíduos saudáveis que se queixam do mau hálito têm utilizado bochechos contendo agentes mascaradores ou antimicrobianos (12, 51, 57).

Muitos produtos com diferentes formulações e mecanismos de ação já foram propostos com o objetivo de auxiliar no combate à halitose, entre eles podemos citar: cloreto de cetilpiridínio, triclosan, digluconato de clorexidina, dióxido de cloro, fluoreto estanoso, óleos essenciais, lactato, citrato e cloreto de zinco (54, 58-60) (47, 61).

Alguns produtos são utilizados para reduzir a halitose pela neutralização química dos CSVs. Os ingredientes ativos desses produtos são frequentemente íons metálicos e agentes oxidantes. Metais como zinco, sódio, estanho e magnésio são cogitados para interagir com enxofre. A interação forma sulfetos insolúveis. O mecanismo proposto é de que os íons de metal oxidem os grupos tiol nos precursores dos CSVs (62, 63). Os agentes oxidantes podem reduzir a halitose, ao reduzir as condições necessárias para o metabolismo de aminoácidos contendo enxofre (64).

Apesar de existir um grande número de trabalhos avaliando a ação desses produtos sobre a halitose, ainda há muita divergência entre os resultados e a sua real eficácia. Em função da literatura relativamente escassa que avalie a eficiência/eficácia de enxaguantes bucais (métodos químicos) no combate e/ou controle da halitose, foi premissa deste trabalho uma avaliação *in vivo* em estudo crossover, controlado, a comparação de métodos químicos para a avaliação do comportamento dos compostos sulfurados voláteis H_2S e CH_3SH no combate à halitose de origem bucal.

Para controle positivo escolheu-se a clorexidina por ser considerada o padrão ouro como agente antimicrobiano e apresentar alguma evidencia de sua efetividade no controle do hálito apesar de seu limitado tempo de eficácia nos estudos com halitose (64-66). Os óleos essenciais foram também selecionados pelas suas indicações ao uso diário possibilidade de comparar suas versões com e sem álcool, além de seu conhecido efeito de mascaramento do hálito (61, 65).

Proposição

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi a avaliação da eficácia de enxaguantes bucais do mercado em reduzir o hálito bucal e mensurar por quanto tempo o efeito foi duradouro, em comparação a um controle com princípio ativo.

Como objetivo específico buscou-se avaliar a eficácia de:

1. Digluconato de Clorexidina (0,12%) – bis-biguanida (com álcool - controle);
2. Digluconato de Clorexidina (0,12%) – bis-biguanida (sem álcool);
3. Óleos Essenciais (Timol, Mentol, Eucaliptol, Salicilato de Metila) com álcool e cloreto de zinco;
4. Óleos Essenciais (Timol, Mentol, Eucaliptol e Salicilato de Metila) sem álcool.

As hipóteses testadas foram:

H_0 = A igualdade de eficácia entre os enxaguantes. No caso desta hipótese ser rejeitada, as seguintes hipóteses serão testadas:

H_1 = Ao fim de 3 horas, a eficácia de enxaguantes que contenham álcool em relação aos enxaguantes livres de álcool.

H_2 = A eficácia da enxaguante para uso diário em relação àqueles com restrições de tempo de uso contínuo

H_3 = A eficácia de um enxaguante bucal que contém o cloreto de zinco ativo em comparação com os outros sem esse ingrediente.

H_4 = A eficácia dos enxaguantes, ao final de 3 horas, comparada aos valores do controle.

Justificativa

3 JUSTIFICATIVA

A cromatografia gasosa apresenta a capacidade de identificar e quantificar, separadamente, os diferentes CSVs presentes no hálito, na saliva incubada e no fluido do sulco gengival envolvidos na formação dos odores bucais (67, 68).

Devido à sua alta sensibilidade e especificidade, é considerada a melhor e mais objetiva técnica para detecção de odores bucais visando o diagnóstico de halitose para fins de pesquisa (69, 70).

Entretanto, em razão do elevado custo, dimensões do equipamento, necessidade de pessoal treinado para a sua correta utilização e o tempo despendido na análise, essa tecnologia é a mais utilizada em centros de pesquisa especializados por fazer diagnósticos diferenciais de causas orais e não bucais, e não apenas para o uso clínico (68, 71, 72).

Pacientes com halitose intraoral apresentam um aumento dos níveis de metil-mercaptanos e de sulfetos de hidrogênio, ao passo que os pacientes com halitose extraoral apresentam as concentrações de dimetil-sulfetos aumentadas (41), todos detectáveis pelo equipamento OralChroma™.

Dentífrícios e enxaguantes com propriedades antimicrobianas podem reduzir o odor bucal pela redução do número de micro-organismos quimicamente. Muitas vezes, os ingredientes ativos utilizados nestes produtos são de clorexidina, triclosan, óleos essenciais e cloreto de cetilpiridínio (73).

Alguns produtos são utilizados para reduzir a halitose pela neutralização química dos CSVs. Os ingredientes ativos frequentemente desses produtos são íons metálicos e agentes oxidantes. Metais como zinco, sódio, estanho e magnésio são cogitados para interagir com enxofre. A interação forma sulfetos insolúveis. O

mecanismo proposto é de que os íons de metal oxidem os grupos tiol nos precursores dos CSVs (62, 63). No entanto, nenhuma correlação positiva foi encontrada entre a afinidade dos íons metálicos para o enxofre e os seus efeitos inibidores sobre os CSVs (74). Os agentes oxidantes podem reduzir a halitose, ao reduzir as condições necessárias para o metabolismo de aminoácidos contendo enxofre (64).

Loesche e Kazor (2002), afirmam que milhares de pessoas portadoras de halitose, proveniente do crescimento de bactérias anaeróbias proteolíticas na superfície de suas línguas, podem ser tratadas com sucesso por um regime que inclui escovação lingual, escovação dental e possivelmente fazer uso de enxaguantes bucais contendo vários agentes (44).

Estudos preliminares relataram que o uso de enxaguantes bucais sem álcool, causa menos desconforto e queimação do que os que o apresentam em sua formulação (75).

Loesche e Kazor (2002), afirmaram que compostos contendo íons de zinco são capazes de reduzir os níveis de compostos sulfurados voláteis pela conversão destes em compostos não voláteis, o que representaria um suporte ao apelo cosmético (44).

A diminuição de micro-organismos por ação química de antimicrobianos é eficaz apenas temporariamente. A eficácia dos ingredientes é dependente de sua concentração, acima do qual, podem ter efeitos colaterais desagradáveis. Bons resultados de curto prazo foram relatados com clorexidina. Triclosan parece ser menos eficaz. Óleos essenciais e cloreto de cetilpiridínio só são eficazes em períodos de curta duração de até 2 ou 3 horas (64).

O ideal é que a concentração de agentes antibacterianos em enxaguantes consiga tanto maximizar seus efeitos terapêuticos quanto minimizar os efeitos indesejáveis, tais como mau gosto (o zinco possui um distinto sabor metálico), ou manchamento dental (como a clorexidina) (76).

Alguns inconvenientes, como efeitos colaterais, são relatados como a alteração de cor dos dentes e restaurações, sabor metálico e descamação da mucosa associados aos íons metálicos e estão tentando ser minimizados por ajuste de sua concentração, inclusive em combinação com outros agentes, como a clorexidina (77).

Em 2003 a ADA estabeleceu orientações para avaliação de produtos usados no combate ao mau hálito, dentre as quais, que tratamentos de combate à halitose crônica devem ser delineados em pacientes diagnosticados com halitose de origem bucal persistente e para isso a cromatografia gasosa é um valioso instrumento e anamnese do paciente.

Yaegaki e cols, em 2012, recomendaram que os protocolos em ensaios clínicos aleatorizados crossover geram resultados muito claros. Protocolos propostos incluem:

- (a) um estudo de curto prazo ao invés de um estudo a longo prazo ser fortemente recomendado, uma vez que as concentrações CSV são constantes no curto prazo;
- (b) um estudo cruzado seria o melhor desenho para evitar os efeitos das especificidades individuais em cada intervenção clínica;
- (c) Medições de CSVs devem preferencialmente serem realizadas utilizando um aparelho de cromatografia gasosa (CG) ou CG portátil.

Material e Método

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Seleção dos Participantes

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, sob número CEP 02122812.8.0000.5419, Plataforma Brasil (<http://aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil/login.jsf>), como pode ser conferido no Anexo B. Em seguida foi realizado o cadastramento deste projeto de pesquisa no Sistema Importa Fácil Ciência, parceria do CNPq com Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (facilitar e agilizar a importação de bens destinados às pesquisas científicas e tecnológicas) para a importação do equipamento OralChroma™, direto do fabricante no Japão (ilustrado na Figura 2). Após realizado o credenciamento (Credenciamento-Lei 10.964/2004 , e Resolução Normativa RN-09/2011) e os trâmites de aprovação e preenchimento dos documentos e guias de isenção de impostos para a pesquisa (Convênio ICMS 57, de 1º/7/05 (DOU de 5/7/05, seção 1, p. 19), foi realizada a importação do equipamento para a unidade FORP-USP (Anexo C). Após calibração do OralChroma™, foram selecionados 21 voluntários de ambos os gêneros, na faixa etária compreendida entre 18 e 50 anos com boa saúde geral, provenientes de triagem prévia (na FORP- USP) a convite dos pesquisadores ou que estivessem em busca de diagnóstico e tratamento para mau hálito. O tamanho da amostra foi definido conforme estudo nosso anterior (78). Todos foram convidados a participar e assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes da participação no estudo conforme Apêndice A.

4.2 Anamnese

A história médica e dentária completa é essencial. O foco primário da história médica foi em medicamentos e doenças sistêmicas. Nos atentamos para a presença de obstrução nasal, respiração bucal, o relatório do ronco e apneia do sono, gotejamento pós nasal, alergia, amigdalite, problemas nas tonsilas, consultas com otorrinolaringologista (79) .

A história bucal incluiu perguntas que avaliaram a frequência de visitas ao dentista, materiais odontológicos utilizados, a presença e a manutenção de prótese dentária; a frequência e os instrumentos utilizados para a escovação dos dentes, limpeza interdental e escovação/raspagem da língua. Além disso, um questionário específico relacionado à halitose foi usado. Este questionário incluiu perguntas sobre o mau hálito, o tempo de ocorrência, período do dia, quando o primeiro problema apresentou-se, se os outros têm relatado o problema e como foi relatado, ou seja, de um modo direto ou indireto (a excluir pseudo-halitose). O paciente foi também perguntado se é psicologicamente ou emocionalmente estressado, das tentativas anteriores para se resolver o problema (por si próprio, médicos ou dentistas), e se cofatores típicos de halitose foram susceptíveis de desempenhar um papel, tais como dieta, tabagismo, ronco, stress, alterações comportamentais devidos à halitose ou sintomas de boca seca. A anamnese vai de encontro com o consenso obtido de um workshop internacional e descrito por Seeman e cols. em 2014 sobre o manejo da halitose (79). Os questionários estão apresentados de acordo com o apêndice B.

Os voluntários a participar do estudo foram pré-triados pela análise do hálito com o equipamento OralChroma™. Dos 106 voluntários pré-triados, 81 não se encaixavam nos critérios de inclusão, pelo hábito de tabagismo, doenças sistêmicas

ou uso de antibiótico há menos de duas semanas. Dos 25 pré-selecionados ao estudo, 23 relataram desconhecer serem portadores de halitose. Apenas 1 paciente relatou conhecimento de ser portador de halitose pelos comportamentos sociais aversivos de colegas. 1 paciente relatou sensação de gosto ruim e presença de cáseos na garganta com certa frequência. 4 voluntários desistiram do ensaio no período pré-clínico (após realização da profilaxia dental e antes do início dos testes). Com a distribuição aleatória, das 4 sequências da ordem de uso uma ficou com 6 voluntários em vez de 5 (80)

Como critério de inclusão no estudo, os voluntários tiveram que preencher os seguintes requisitos ao exame clínico (81, 82):

1. Presença de no mínimo 20 dentes naturais;
2. Boa higiene bucal;
3. Ausência de doença periodontal, xerostomia, ou qualquer processo inflamatório crônico;
4. Pacientes portadores de halitose de causa intraoral (CSVs acima de 112ppb para H_2S ou 26ppb para o CH_3SH – detectado pelo OralChromaTM).
5. Foram excluídos voluntários tabagistas, grávidas ou lactantes, portadores de doenças sistêmicas (hepática, renal, diabetes), infecção faringea ou tonsilar, inflamações do trato respiratório superior ou inferior, portadores de próteses removíveis, próteses fixas insatisfatórias clinicamente, cáries dentais, lesões na mucosa bucal, que fizessem uso regular de medicamentos ou que tivessem feito tratamento com antibióticos há menos de três meses. Assim foi evitado o efeito de confundimento, ou seja, evitado que entre o fator de exposição e o desfecho houvesse um terceiro fator de interferência.

4.3 Avaliação Organoléptica

A literatura internacional recente mostra que uma comissão de juízes não necessariamente melhora a precisão da avaliação organoléptica e, portanto, um juiz seria suficiente (79, 83, 84). Dessa forma, para mensuração dos valores organolépticos foi realizada a calibração e treino de um examinador para testar sua habilidade em distinguir odores com o uso do Teste de Identificação do Odor[®] (Sensonics, Inc. Haddon Heights, NJ, USA) (85).

Foi estabelecido, para a análise do hálito, o teste simplificado proposto por Seeman e colaboradores (2014) (79) adaptado de Bornstein e cols. (2009) (86) para eliminar a confusão que ocorre facilmente entre as graduações “moderado” e “forte” do teste clássico proposto por Rosenberg em 1996. O teste clássico é dado em escore de 0-5, onde 0 representa ausência de odor, 1 odor quase imperceptível, 2 mau odor leve, 3 mau odor moderado, 4 mau odor forte e 5 odor extremamente ofensivo do hálito. A análise descrita por Rosenberg é realizada com a boca em repouso (boca aberta sem respiração) e quando os pacientes contam de 1 a 11 (19)(Rosenberg, 1996). Consiste ainda na avaliação da respiração nasal (mantendo a boca fechada), a fim de excluir causas extraorais. (19, 79). O teste adotado inicialmente para essa pesquisa está detalhado conforme Tabela 1.

Tabela 1. Escalas organolépticas recomendadas para o dentista em geral.

Escala de distância escala de halitose	
Grau 0	Sem mau cheiro detectado
Grau 1	Mau odor é claramente detectado, se o observador se aproxima a uma distância de cerca de 10 cm da boca do paciente
Grau 2	Mau odor é claramente detectado, se o observador se aproxima a uma distância de cerca de 30 cm da boca do paciente
Grau 3	Mau odor é claramente detectado, se o observador se aproxima a uma distância de cerca de 100 cm da boca do paciente

Contudo, durante os exames realizados diariamente com os voluntários, durante alguns dias das análises, o examinador esteve impossibilitado de realizar o teste organoléptico por afecção de sinusite e rinite. A intensidade do hálito percebida era fraca ou inexistente enquanto os valores detectados pelo OralChroma™ apontavam acima de 800ppb iniciais para o H_2S e mais de 70ppb para o CH_3SH .

Apesar de suas limitações, como a falta de objetividade e reprodutibilidade, o teste organoléptico tem sido considerado o padrão ouro entre os diversos métodos diagnósticos disponíveis para a halitose (87), como o mais confiável (12) e de maior importância para os pacientes (88), pois o olfato humano é capaz de distinguir cerca de 10000 odores mesmo em concentrações extremamente baixas (89).

4.4 Desenho do Estudo

Este estudo consiste em um ensaio clínico randomizado, cruzado, com 4 grupos e 4 períodos experimentais, unicêntrico e com mascaramento dos pacientes,

do examinador e da análise. Os estatísticos sugerem que projetos tenham quatro períodos, pois permite desfrutar de uma maior eficiência do que o projeto de dois períodos ou três (90).

4.5 Fase pré-experimental

Os testes foram realizados com alunos da graduação, pós graduação do campus, funcionários e docentes da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP. Todos os 21 participantes estavam dentro dos critérios de inclusão e apresentavam condições saudáveis da boca, sem sangramento gengival espontâneo, ausência de doença periodontal (ou profundidade de sondagem com mais de 3mm), porém alguns apresentaram cálculo dental supra e subgengival com menos de 3mm de profundidade. Foi realizada profilaxia dental em todos os voluntários previamente ao estudo para manutenção de condições de saúde periodontal e, após profilaxia, foi fornecido aos pacientes um *kit* de higiene bucal para manutenção da higienização durante o período do estudo.

Na semana que antecedeu o início do estudo, os voluntários receberam instruções de higiene bucal e o conjunto escova dental (Escova Dental Oral-B Clinical Protection Pro Flex[®] macia- Procter & Gamble) e dentífrico (Creme Dental Colgate[®] Máxima Proteção Anticáries) fornecidos pelo pesquisador, de modo a não fazer uso de qualquer tipo de enxaguante bucal, desde a semana que antecederesse a primeira intervenção e a permanecer sem uso por todo o período do estudo. O dentífrico eleito não contém princípios ativos antissépticos que não o fluoreto de sódio. O uso do fio dental não foi restringido. Esse período determinou a padronização do período pré-clínico, livre de possíveis resíduos de enxaguantes.

Antes de iniciar os experimentos, os voluntários foram instruídos a permanecer por 12 horas sem fazer uso de qualquer tipo de higiene bucal e foram solicitados a evitar o consumo de alimentos cuja decomposição pudesse produzir forte odor (como alho, cebola, ovo e repolho) e a ingestão de bebidas alcoólicas, de modo a se registrar os índices iniciais de CSVs na manhã seguinte (vide apêndice A) (91).



Figura 1. Enxaguantes com etiquetas nos frascos e sobre as tampas originais. Copo medidor graduado de 15mL com etiqueta de identificação de seu respectivo produto no fundo (externo).

4.6 Produtos avaliados

Foi avaliada a eficácia na redução de CSVs, empregando-se os enxaguantes discriminados e identificados pelos códigos presentes na Tabela 2:

Tabela 2. Enxaguantes testados quanto à eficácia na redução da emissão de compostos sulfurados voláteis

Código	Produto	Fabricante	Princípio ativo	Lote e validade
A	Periogard®	Colgate	Gluconato de clorexidina a 0,12% (controle)	4089BR122CH20- V.03/17
B	Periogard® Sem álcool	Colgate	Gluconato de clorexidina a 0,12% (sem álcool)	4138BR122CH14 – V.05/17
C	Listerine® Cuidado Total	©Johnson & Johnson do Brasil	Eucaliptol, Timol, salicilato de metila, mentol e cloreto de zinco (com álcool)	1494B07 – V.05/16
D	Listerine® Zero™	©Johnson & Johnson do Brasil	Eucaliptol, Timol, salicilato de metila, mentol (sem álcool)	1134B09 – V.04/16

4.7 Método experimental

Durante o período pré-experimental todos os participantes tiveram que seguir as seguintes instruções (91):

- Evitar a ingestão de alimentos e líquidos (exceto água). No entanto, lhes foi permitido tomar café da manhã 2 horas antes do período de avaliação.
- Abster-se de quaisquer medidas de higiene bucal.
- Evitar o uso de gomas de mascar, balas, doces ou refrescantes do hálito.

Neste estudo cruzado, cada um dos 21 indivíduos foi aleatoriamente alocado, de acordo com a sequência de números aleatórios: 3 1 4 4 1 2 3 1 1 3 3 4 2 4 2 2 1 3 2 4 3 (gerados pelo *software* R versão 3.2.0 para Windows®), de forma que o primeiro voluntário recebesse o tratamento 3, o segundo recebesse tratamento 1 e assim por diante, a uma das 4 sequências de uso dos produtos, descritas no Quadro 1:

Produtos	1	2	3	4
A (N=5)				
B (N=5)				
C (N=6)				
D (N=5)				

Quadro 1. As colunas representam os períodos e as linhas representam as sequências de uso dos produtos.

4.8 Mensuração dos Compostos Sulfurados Voláteis

As limitações do teste organoléptico puderam ser compensadas pela associação com um método mais objetivo, como a cromatografia gasosa por ser um método mais reproduzível e preciso (54, 65, 84, 92).

Um teste de cromatografia gasosa (CG) para medir CSVs é, de acordo com vários autores, o método mais eficaz para o diagnóstico de halitose e deve ser considerado o "padrão-ouro" (8, 13, 67, 93, 94)

O cromatógrafo gasoso portátil (OralChroma™, FIS Inc., Itami, Japão), Figura 2, foi utilizado para a mensuração da concentração de H₂S, CH₃SH, ambos de origem intraoral e (CH₃)₂S de origem extrabucal.



Figura 2. Seringa inserida na boca do paciente, com o cuidado de não tocar língua nem palato, o êmbolo é puxado 4 a 5 vezes e então a seringa removida da boca (caso haja saliva é limpa com papel toalha) e a agulha acoplada para ser inserida no receptor do equipamento. A amostra é injetada e a análise de 8 minutos iniciada pelo aparelho Cromatógrafo gasoso portátil - OralChromaTM (FIS Inc, Itami, Japão).

Com relação às concentrações de sulfetos, Tonzetich e Ng, em 1976 verificaram que o limiar de percepção olfativa dos sulfidretos ocorre em 106ppb enquanto que dos metil-mercaptanos, em 24ppb (95).

Para o monitor portátil de sulfetos os valores totais de CSVs e sua correlação com a intensidade da halitose está descrita conforme o Quadro 2, contudo, há que se levar em conta a alta sensibilidade do Halimeter[®] para o sulfeto de hidrogênio e sua baixa sensibilidade para detecção dos mercaptanos que em baixas concentrações já podem ser muito mais ofensivas ao hálito do que os H₂S.

CSV (PPB) INTERPRETAÇÃO	
80	Sem odor perceptível
80 a 100	Odor perceptível, às vezes considerado como halitose
100 a 120	Halitose moderada
120 a 150	Halitose mais pronunciada
Acima de 150	Halitose severa

Quadro 2. Valores dos CSVs e o correspondente grau de odor do hálito

A coleta de amostras ocorreu por uso de uma seringa descartável (totalmente plástica de 1 mL) adquirida juntamente com o aparelho, que foi inserida na cavidade bucal dos voluntários. Os indivíduos fechavam a boca e faziam “bochecho” com ar durante 30s antes da coleta da amostra. O volume de 1mL de ar bucal foi então injetado no dispositivo de medição. Após 8 minutos o processo estava concluído e a concentração dos três gases foram exibidos em ng/10 mL ou ppbv (nmol/mol) de acordo com as correções do cromatograma apresentadas por Tangerman e colaboradores em 2008 (94).

Os indivíduos selecionados foram submetidos a análise por cromatografia gasosa portátil para identificação de sulfeto de hidrogênio e metil-mercaptano (metanotiol).

Na manhã do experimento, aos voluntários foi permitido o café da manhã sem que se fizesse algum tipo de higiene bucal e não deveriam usar nenhum cosmético que liberasse odor/perfume (96).

Cada indivíduo utilizou 15mL dos enxaguantes A e B e 20mL dos enxaguantes C e D, à razão de um minuto, conforme as recomendações dos fabricantes apenas uma vez, durante o dia do ensaio. Dessa forma, o hálito de cada voluntário foi examinado nos seguintes intervalos de tempo (97-99):

- tempo 0 = antes da utilização do produto (dados iniciais/*baseline*);
- tempo 1 = 1 hora após o bochecho;
- tempo 2 = 2 horas após o bochecho;
- tempo 3 = 3 horas após o bochecho.

Após a obtenção dos dados, os voluntários foram orientados a higienizar a boca, fazendo uso somente de escova dental e dentifrício fornecidos pelos pesquisadores pelo período de mais uma semana (7 dias) (*washout*) de forma a evitar interferência dos resultados obtidos com os da semana seguinte (*carry over*) baseado em estudos similares com formulações de CHX (91, 100-106). Decorrido esse período, as próximas intervenções ocorreram tendo entre elas os seus intervalos de *washout* até que todos os produtos fossem testados por todos os indivíduos, ao final do experimento.

O material colhido para análise no cromatógrafo, era injetado diretamente no aparelho por meio da abertura específica conforme Figura 2 (orifício alimentador). Os picos registrados para os gases estudados foram determinados dentro dos

seguintes tempos: aos 56s para o H_2S e aos 138s para metil-mercaptano ou metanotiol conforme espectro previsto para tais gases em estudo prévio (101), como se observa nas Figuras 3a e 3b.

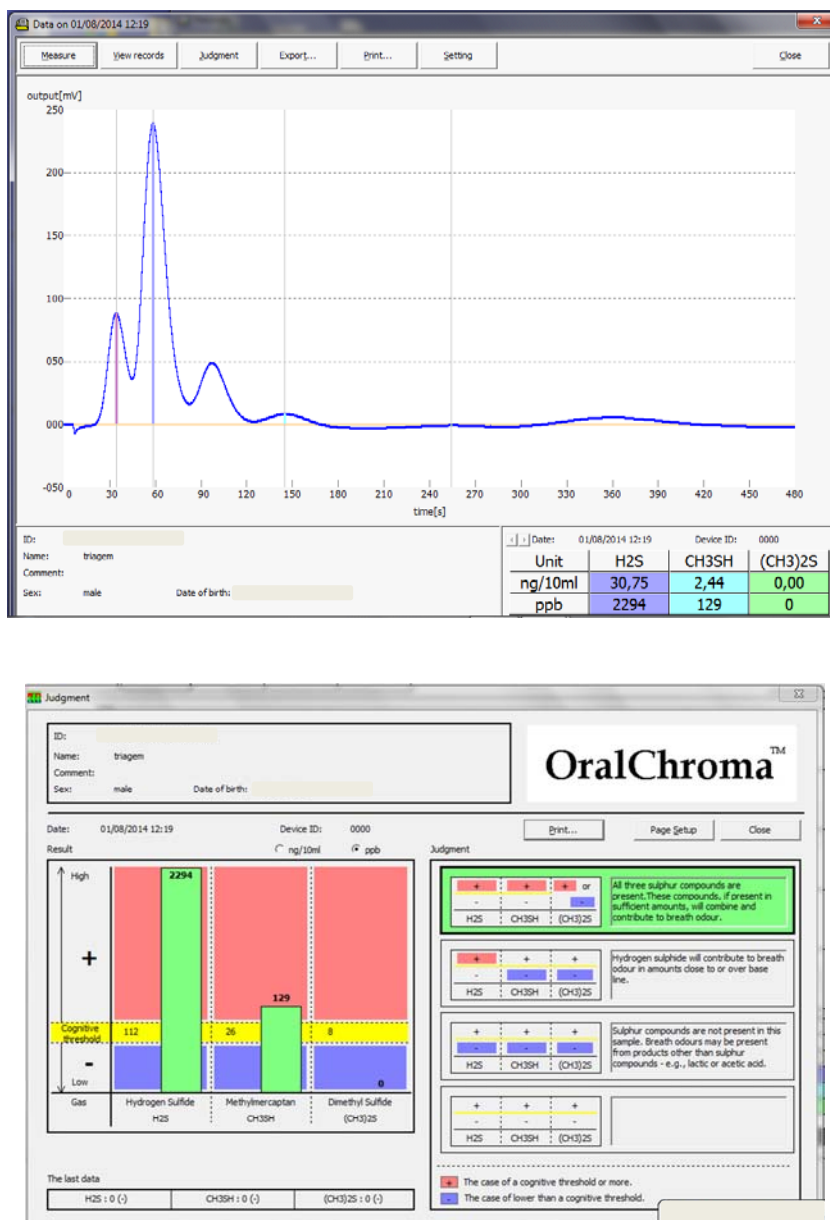


Figura 3. a. Traçado da análise dos gases de acordo com o tempo b. Gráfico resultante da análise.

4.9 Análise dos dados

Optou-se por realizar um estudo crossover de ordem superior (4x4), formado por 4 sequências e 4 períodos, pois permite estimar as variabilidades inter e intra-individuais, assim como a interação entre indivíduos e formulação

Os dados registrados pelo OralChroma™ foram coletados e tabulados em planilha Excel e de acordo com os códigos demarcados dos enxaguantes e submetidos aos testes estatísticos a seguir descritos:

O estudo apresenta duas variáveis quantitativas discretas (compostos H_2S e CH_3SH da halitose medidos em ppb), onde foram comparados 4 produtos para o controle da halitose (A, B, C e D) avaliados de maneira longitudinal em 4 tempos, sendo adotadas 4 sequências de uso dos produtos (1, 2, 3 e 4).

Inicialmente foi realizada uma análise exploratória de dados através de gráficos e medidas de posição central e de dispersão (média, desvio-padrão, mediana, valor mínimo e máximo).

As comparações das médias das variáveis: H_2S e CH_3SH foram feitas por modelos de regressão linear de efeitos mistos (107). Estes modelos consideram um efeito aleatório por indivíduo, informando que cada paciente utiliza todos os enxaguantes e suas medidas são tomadas longitudinalmente: *baseline*, 1h, 2h e 3h. Para a utilização deste modelo, é preciso que seus resíduos tenham distribuição normal com média zero e variância constante. O ajuste do modelo foi feito através do procedimento PROC MIXED do *software* SAS® 9.2. Foi estabelecido que as diferenças significantes seriam assinaladas apenas quando $p < 0,05$ (nível de significância de 5%).

Resultados

5 RESULTADOS

Já foi mostrado que os intervalos de confiança informam melhor os leitores sobre a possibilidade de um tamanho de amostra inadequada do que os cálculos de poder *post hoc* (108).

Após análise exploratória dos dados, foi possível construir uma tabela de resumo das medidas obtidas (Tabela 3):

Tabela 3. Resumo das medidas em cada tempo e cada enxaguante.

Tempo	Enx	Var	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Media	Max	IC 95%	
									LI	LS
Baseline	A	resp H ₂ S	21	561,38	498,40	182,00	393,00	2037,00	334,51	788,25
		CH ₃ SH	21	179,81	218,99	0,00	162,00	873,00	80,13	279,49
	B	resp H ₂ S	21	614,62	472,67	162,00	423,00	1674,00	399,46	829,78
		CH ₃ SH	21	171,86	185,57	0,00	95,00	678,00	87,39	256,33
	C	resp H ₂ S	21	587,62	578,42	160,00	410,00	2406,00	324,33	850,91
		CH ₃ SH	21	219,48	193,43	0,00	184,00	622,00	131,43	307,52
	D	resp H ₂ S	21	426,43	346,59	160,00	349,00	1730,00	268,66	584,20
		CH ₃ SH	21	158,86	181,41	0,00	95,00	609,00	76,28	241,43
1h	A	resp H ₂ S	21	165,76	215,52	0,00	68,00	771,00	67,66	263,87
		CH ₃ SH	21	194,81	210,81	0,00	162,00	868,00	98,85	290,77
	B	resp H ₂ S	21	233,10	335,74	0,00	96,00	1220,00	80,27	385,92
		CH ₃ SH	21	179,19	183,90	0,00	129,00	529,00	95,48	262,90
	C	resp H ₂ S	21	80,90	191,95	0,00	2,00	860,00	-6,47	168,28
		CH ₃ SH	21	42,43	63,02	0,00	0,00	178,00	13,74	71,12
	D	resp H ₂ S	21	524,81	621,45	0,00	245,00	2406,00	241,93	807,69
		CH ₃ SH	21	101,62	163,16	0,00	9,00	609,00	27,35	175,89
2h	A	resp H ₂ S	21	102,00	135,14	0,00	48,00	418,00	40,49	163,51
		CH ₃ SH	21	172,10	173,33	0,00	129,00	600,00	93,20	250,99
	B	resp H ₂ S	21	256,67	515,15	0,00	50,00	2153,00	22,17	491,16
		CH ₃ SH	21	189,48	255,08	0,00	124,00	959,00	73,37	305,59
	C	resp H ₂ S	21	117,38	265,00	0,00	16,00	961,00	-3,25	238,01
		CH ₃ SH	21	102,48	159,27	0,00	32,00	657,00	29,98	174,98
	D	resp H ₂ S	21	472,81	514,89	0,00	260,00	1733,00	238,43	707,19
		CH ₃ SH	21	160,86	190,95	0,00	77,00	717,00	73,94	247,77
3h	A	resp H ₂ S	21	62,57	92,64	0,00	13,00	309,00	20,40	104,74
		CH ₃ SH	21	110,57	140,32	0,00	77,00	516,00	46,70	174,44
	B	resp H ₂ S	21	202,19	476,43	0,00	58,00	2200,00	-14,68	419,06
		CH ₃ SH	21	156,05	268,45	0,00	32,00	1171,00	33,85	278,25
	C	resp H ₂ S	21	173,19	358,25	0,00	5,00	1179,00	10,12	336,26
		CH ₃ SH	21	66,14	136,40	0,00	9,00	591,00	4,05	128,23
	D	resp H ₂ S	21	545,19	556,86	5,00	307,00	1941,00	291,71	798,67
		CH ₃ SH	21	174,57	199,28	0,00	83,00	687,00	83,86	265,28

Com esses valores foi possível construir um gráfico que possibilita a visualização do comportamento dos gases para cada enxaguante em cada tempo, de acordo com a Figura 4:

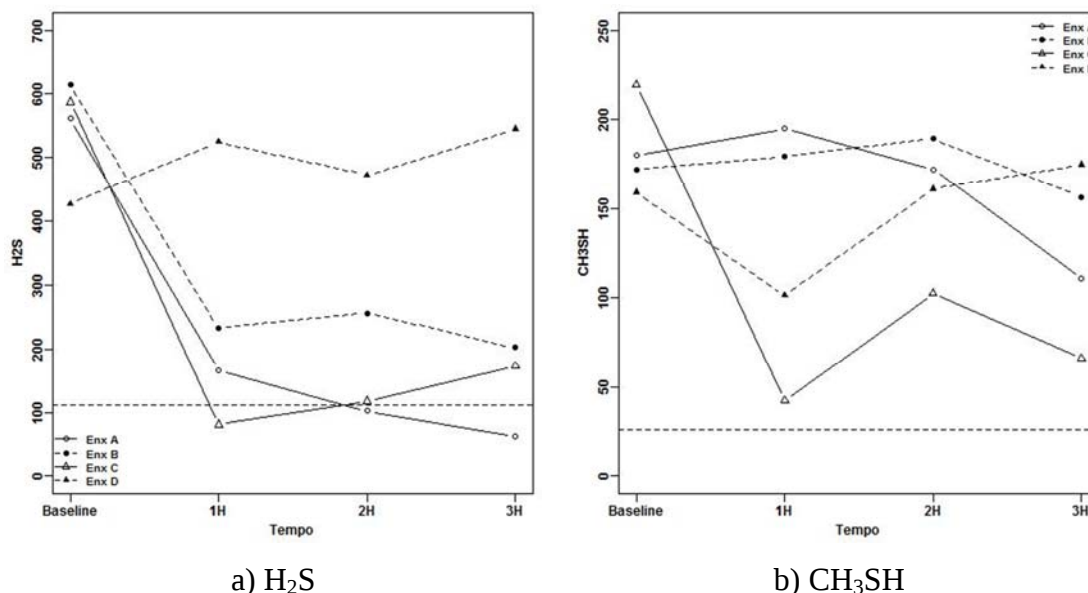


Figura 4. Gráfico de linha das variáveis em estudo em relação ao tempo, em cada enxaguante. A linha horizontal pontilhada representa os valores mínimos detectáveis ao olfato humano, sendo 112ppb para o H₂S e 26ppb para o CH₃SH.

As pessoas quando são alocadas às sequências de uso de enxaguantes podem apresentar características individuais como, por exemplo, idade ou sexo, que os tornam significativamente diferentes.

Grupos compostos com pessoas de maior idade podem ter valores do hálito maiores. Isto pode ocorrer quando o processo de aleatorização para a alocação dos voluntários nas sequências não é feita adequadamente. Tanto para o H₂S quanto para o CH₃SH, os valores não mostraram diferenças entre as sequências. Pode-se inferir, então, que a distribuição dos voluntários nessas sequencias foi válida e portanto, isso não ocasionou interferências nos resultados.

Tabela 4. Comparações entre as sequências independente dos tempos para ambos os compostos.

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
H ₂ S	ABCD - BADC	136,40	0,46	-227,31	500,11
	ABCD - CDAB	50,42	0,78	-297,80	398,65
	ABCD - DCBA	101,03	0,58	-262,69	464,74
	BADC - CDAB	-85,98	0,63	-434,20	262,25
	BADC - DCBA	-35,38	0,85	-399,09	328,34
	CDAB - DCBA	50,60	0,78	-297,63	398,83
CH ₃ SH	ABCD - BADC	30,49	0,69	-119,87	180,85
	ABCD - CDAB	28,22	0,70	-115,74	172,18
	ABCD - DCBA	76,38	0,32	-73,99	226,74
	BADC - CDAB	-2,26	0,98	-146,23	141,70
	BADC - DCBA	45,89	0,55	-104,47	196,25
	CDAB - DCBA	48,15	0,51	-95,81	192,11

O fato de não haver diferença entre as sequências implica em uma alocação adequada dos indivíduos, onde são diluídas as diferenças intrínsecas de cada pessoa entre idade, sexo (influência de fatores hormonais) (109). Maiores detalhes podem ser vistos em anexo 1 (*report* estatístico), onde são realizadas as comparações entre as sequências para cada um dos compostos, tanto para H₂S quanto para CH₃SH.

Contudo, houve diferenças significantes entre os produtos quando comparados entre si, independentemente do tempo, tanto para H₂S quanto para CH₃SH. Dessa forma, rejeita-se a hipótese nula (H₀) de igualdade entre os produtos testados (108)

Tabela 5. Comparações entre os produtos independente dos tempos pra os compostos H₂S e CH₃SH.

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
H ₂ S	(enx A - B)	-97,74	0,05	-196,76	1,28
	(enx A - C)	-22,98	0,65	-122,00	76,04
	(enx A - D)	-271,48	<,0001	-370,50	-172,46
	(enx B - C)	74,76	0,14	-24,26	173,78
	(enx B - D)	-173,74	0,001	-272,76	-74,72
	(enx C - D)	-248,50	<,0001	-347,52	-149,48
CH ₃ SH	(enx A - B)	-10,18	0,68	-58,59	38,24
	(enx A - C)	54,33	0,03	5,91	102,75
	(enx A - D)	13,04	0,60	-35,38	61,46
	(enx B - C)	64,50	0,01	16,08	112,92
	(enx B - D)	23,22	0,35	-25,20	71,63
	(enx C - D)	-41,29	0,09	-89,70	7,13

5.1 Comparação dos valores baseline do H₂S e do CH₃SH para cada enxaguante

Quando os *baselines* dos enxaguantes foram comparados, não houve diferenças entre si. Isso indica que o período de *washout* foi suficiente para evitar o efeito residual (*carry-over*) do uso de um enxaguante sobre o outro a ser usado na semana seguinte para ambos os gases estudados (H₂S e CH₃SH) – conforme Tabela 6.

Tabela 6. Comparação dos CSVs entre os períodos *baseline* de cada produto.

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
H ₂ S	(enx A - B)baseline	-41,27	0,68	-239,31	156,77
	(enx A - C)baseline	-42,72	0,67	-240,76	155,32
	(enx A - D)baseline	128,04	0,20	-70,00	326,08
	(enx B - C)baseline	-1,45	0,99	-199,49	196,59
	(enx B - D)baseline	169,31	0,09	-28,73	367,35
	(enx C - D)baseline	170,76	0,09	-27,28	368,80
CH ₃ SH	(enx A - B)baseline	5,86	0,91	-90,98	102,69
	(enx A - C)baseline	-41,94	0,39	-138,78	54,89
	(enx A - D)baseline	19,65	0,69	-77,19	116,49
	(enx B - C)baseline	-47,80	0,33	-144,64	49,04
	(enx B - D)baseline	13,79	0,78	-83,04	110,63
	(enx C - D)baseline	61,59	0,21	-35,24	158,43

5.2 Análise dos compostos

5.2.1 Análise do H₂S

5.2.1.1 Análise em cada tempo

5.2.1.1.1 Primeira hora:

Durante a primeira hora foram feitas comparações entre os enxaguantes. Os valores médios do H₂S para a clorexidina com álcool, da clorexidina sem álcool e dos óleos essenciais com álcool/cloreto de zinco foram significativamente menores do que as médias para os que usaram óleos essenciais sem álcool. Os óleos essenciais com álcool/cloreto de zinco obtiveram o melhor desempenho, seguido da clorexidina com álcool e depois da clorexidina sem álcool. Clinicamente observou-se uma diminuição dos valores basais desses três primeiros produtos (Tabela 7).

Tabela 7. Comparações entre os enxaguantes para a primeira hora

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
H ₂ S	(enx A - B)1H	-55,02	0,58	-253,06	143,02
	(enx A - C)1H	85,30	0,40	-112,74	283,34
	(enx A - D)1H	-359,08	0,001	-557,12	-161,04
	(enx B - C)1H	140,32	0,16	-57,72	338,36
	(enx B - D)1H	-304,07	0,001	-502,11	-106,03
	(enx C - D)1H	-444,38	<,0001	-642,42	-246,34

5.2.1.1.2 Segunda hora

Durante a segunda hora, os valores médios do H₂S foram quase idênticos aos da primeira hora, onde os valores médios do H₂S para a clorexidina com álcool, da clorexidina sem álcool e do óleos essenciais com álcool/cloreto de zinco foram significativamente menores do que as médias para os que usaram óleos essenciais sem álcool. A clorexidina com álcool obteve o melhor desempenho, seguido dos óleos essenciais com álcool/cloreto de zinco e depois da clorexidina sem álcool (Tabela 8).

Tabela 8. Comparações entre os enxaguantes para a segunda hora

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
H ₂ S	(enx A - B)2H	-151,37	0,13	-349,41	46,67
	(enx A - C)2H	-21,44	0,83	-219,48	176,60
	(enx A - D)2H	-371,67	0,001	-569,71	-173,63
	(enx B - C)2H	129,92	0,20	-68,11	327,96
	(enx B - D)2H	-220,30	0,03	-418,34	-22,26
	(enx C - D)2H	-350,22	0,001	-548,26	-152,19

5.2.1.1.3 Terceira hora

Durante a terceira hora, o comportamento das médias foi semelhante ao da primeira e segunda horas. Os valores médios do H_2S para a clorexidina com álcool, da clorexidina sem álcool e dos óleos essenciais com álcool/cloreto de zinco foram significativamente menores do que as médias para os que usaram óleos essenciais sem álcool. A clorexidina com álcool obteve o melhor desempenho, seguido dos óleos essenciais com álcool/cloreto de zinco e depois da clorexidina sem álcool (Tabela 9).

Tabela 9. Comparações entre os enxaguantes para a terceira hora.

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
H_2S	(enx A - B)3H	-143,32	0,16	-341,36	54,71
	(enx A - C)3H	-113,06	0,26	-311,10	84,98
	(enx A - D)3H	-483,21	<,0001	-681,25	-285,17
	(enx B - C)3H	30,27	0,76	-167,77	228,31
	(enx B - D)3H	-339,88	0,001	-537,92	-141,84
	(enx C - D)3H	-370,15	0,001	-568,19	-172,11

5.2.1.2 Comportamento de cada enxaguante ao longo das 3 horas

Clorexidina com álcool (A)

Houve uma redução significativa das médias ao longo de todo o tempo quando comparadas aos valores iniciais. Porém entre a primeira, segunda e terceira horas a redução não foi significativa entre si (Tabela 10).

Tabela 10. Comparações entre os tempos para o enxaguante A

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
H ₂ S	(baseline - 1h)enxA	393,12	0,001	195,09	591,16
	(baseline - 2h)enxA	460,46	<,0001	262,42	658,50
	(baseline - 3h)enxA	499,30	<,0001	301,26	697,34
	(1h - 2h)enxA	67,33	0,50	-130,71	265,37
	(1h - 3h)enxA	106,17	0,29	-91,86	304,21
	(2h - 3h)enxA	38,84	0,70	-159,20	236,88

Clorexidina sem álcool (B)

Houve uma redução significativa das médias ao longo de todo o tempo quando comparadas aos valores iniciais. Porém entre a primeira, segunda e terceira horas a redução não foi significativa entre si (Tabela 11).

Tabela 11. Comparações entre os tempos para o enxaguante B.

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
H ₂ S	(baseline - 1h)enxB	379,37	0,001	181,34	577,41
	(baseline - 2h)enxB	350,36	0,001	152,32	548,40
	(baseline - 3h)enxB	397,24	0,001	199,20	595,28
	(1h - 2h)enxB	-29,02	0,77	-227,06	169,02
	(1h - 3h)enxB	17,87	0,86	-180,17	215,91
	(2h - 3h)enxB	46,88	0,64	-151,16	244,92

Óleos essenciais com álcool e cloreto de zinco (C)

Houve uma redução significativa das médias ao longo de todo o tempo quando comparadas aos valores iniciais. Porém entre a primeira, segunda e terceira horas a redução não foi significativa entre si (Tabela 12).

Tabela 12. Comparações entre os tempos para o enxaguante C.

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
H ₂ S	(baseline - 1h)enxC	521,14	<,0001	323,10	719,18
	(baseline - 2h)enxC	481,73	<,0001	283,69	679,77
	(baseline - 3h)enxC	428,96	<,0001	230,92	627,00
	(1h - 2h)enxC	-39,41	0,70	-237,45	158,63
	(1h - 3h)enxC	-92,18	0,36	-290,22	105,86
	(2h - 3h)enxC	-52,78	0,60	-250,81	145,26

Óleos essenciais sem álcool (D)

Não houve uma redução significativa das médias ao longo de todo o tempo quando comparadas ao valores iniciais. Os valores negativos da diferença entre as médias representam o aumento do hálito com o passar do tempo, demonstrando que esse enxaguante não foi eficaz na redução do hálito. Da primeira à terceira houve um aumento dos valores mas não significantes (Tabela 13).

Tabela 13. Comparações entre os tempos para o enxaguante D

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
H ₂ S	(baseline - 1h)enxD	-94,00	0,35	-292,04	104,04
	(baseline - 2h)enxD	-39,25	0,70	-237,29	158,79
	(baseline - 3h)enxD	-111,95	0,27	-309,99	86,09
	(1h - 2h)enxD	54,75	0,59	-143,29	252,79
	(1h - 3h)enxD	-17,95	0,86	-215,99	180,09
	(2h - 3h)enxD	-72,70	0,47	-270,74	125,34

5.2.2 Análise do CH₃SH

Considerando as diferenças dos valores de CH₃SH entre os enxaguantes independentemente do tempo (Tabela 4), foram feitas comparações pareadas,

observando-se que os valores das médias de CH₃SH para os óleos essenciais com álcool/cloreto de zinco diferiram da:

- clorexidina com álcool
- e da clorexidina sem álcool.

Assim, procedeu-se a realização das análises entre os enxaguantes em cada tempo e para cada um ao longo dos tempos (Tabela 14).

Tabela 14. Comparação dos entre os períodos *baseline* de cada produto.

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
CH ₃ SH	(enx A - B)baseline	5,86	0,91	-90,98	102,69
	(enx A - C)baseline	-41,94	0,39	-138,78	54,89
	(enx A - D)baseline	19,65	0,69	-77,19	116,49
	(enx B - C)baseline	-47,80	0,33	-144,64	49,04
	(enx B - D)baseline	13,79	0,78	-83,04	110,63
	(enx C - D)baseline	61,59	0,21	-35,24	158,43

Considerando que não houve diferenças entre os valores iniciais entre todos os enxaguantes, observou-se que:

5.2.2.1 Análise dos tempos

5.2.2.1.1 Primeira hora

Durante a primeira hora foram feitas comparações entre os enxaguantes. Os valores médios do CH₃SH para os óleos essenciais com álcool/cloreto de zinco foram significativamente menores do que as médias para os que usaram a clorexidina com álcool e a clorexidina sem álcool. Os óleos essenciais com

álcool/cloreto de zinco obtiveram o melhor desempenho, seguido da sua versão sem álcool. Já as versões de clorexidina não tiveram efeito sobre esse odoriveto (Tabela 15).

Tabela 15. Comparações entre os enxaguantes para a primeira hora.

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
CH ₃ SH	(enx A - B)1H	19,65	0,69	-77,19	116,49
	(enx A - C)1H	153,07	0,001	56,24	249,91
	(enx A - D)1H	92,93	0,06	-3,91	189,76
	(enx B - C)1H	133,43	0,01	36,59	230,26
	(enx B - D)1H	73,28	0,14	-23,56	170,11
	(enx C - D)1H	-60,15	0,22	-156,99	36,69

5.2.2.1.2 Segunda hora

Durante a segunda hora, os valores médios do CH₃SH não apresentaram diferenças significantes para cada um dos enxaguantes (Tabela 16).

Tabela 16. Comparações entre os enxaguantes para a segunda hora

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
CH ₃ SH	(enx A - B)2H	-17,86	0,72	-114,69	78,98
	(enx A - C)2H	65,14	0,19	-31,69	161,98
	(enx A - D)2H	5,17	0,92	-91,67	102,00
	(enx B - C)2H	83,00	0,09	-13,84	179,84
	(enx B - D)2H	23,03	0,64	-73,81	119,86
	(enx C - D)2H	-59,98	0,22	-156,81	36,86

5.2.2.1.3 Terceira hora

Durante a terceira hora, os valores médios do CH₃SH para os óleos essenciais com álcool/cloreto de zinco foram significativamente menores do que as médias para os óleos essenciais sem álcool. Os óleos essenciais com álcool/cloreto de zinco obtiveram o melhor desempenho. Não houve diferença entre os demais enxaguantes (Tabela 17).

Tabela 17. Comparações entre os enxaguantes para a terceira hora.

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
CH ₃ SH	(enx A - B)3H	-48,35	0,33	-145,19	48,49
	(enx A - C)3H	41,03	0,40	-55,80	137,87
	(enx A - D)3H	-65,58	0,18	-162,41	31,26
	(enx B - C)3H	89,38	0,07	-7,45	186,22
	(enx B - D)3H	-17,23	0,73	-114,06	79,61
	(enx C - D)3H	-106,61	0,03	-203,44	-9,77

5.2.3 Comportamento de cada enxaguante ao longo das 3 horas

Clorexidina com álcool (A)

Não foi capaz de reduzir os valores médios quando comparados aos valores iniciais ou aos demais tempos (Tabela 18).

Tabela 18. Comparações entre os tempos para o enxaguante A

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
CH ₃ SH	(baseline - 1h)enxA	-15,88	0,75	-112,72	80,95
	(baseline - 2h)enxA	9,58	0,85	-87,26	106,41
	(baseline - 3h)enxA	69,47	0,16	-27,37	166,30
	(1h - 2h)enxA	25,46	0,61	-71,38	122,29
	(1h - 3h)enxA	85,35	0,08	-11,49	182,19
	(2h - 3h)enxA	59,89	0,22	-36,94	156,73

Clorexidina sem álcool (B)

Não foi capaz de reduzir os valores médios quando comparados aos valores iniciais ou aos demais tempos (Tabela 19).

Tabela 19. Comparações entre os tempos para o enxaguante B

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
CH ₃ SH	(baseline - 1h)enxB	-2,09	0,97	-98,93	94,74
	(baseline - 2h)enxB	-14,14	0,77	-110,98	82,69
	(baseline - 3h)enxB	15,26	0,76	-81,58	112,09
	(1h - 2h)enxB	-12,05	0,81	-108,89	84,79
	(1h - 3h)enxB	17,35	0,72	-79,49	114,19
	(2h - 3h)enxB	29,40	0,55	-67,44	126,24

Óleos essenciais com álcool e cloreto de zinco (C)

Foi o único enxaguantes que apresentou redução em todos os tempos comparados. Houve uma redução significativa das médias ao longo de todo o tempo quando comparadas aos valores iniciais. Entre a primeira, segunda e terceira hora, não houve diferenças significantes (Tabela 20).

Tabela 20. Comparações entre os tempos para o enxaguante C

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
CH ₃ SH	(baseline - 1h)enxC	179,13	0,001	82,30	275,97
	(baseline - 2h)enxC	116,66	0,02	19,82	213,49
	(baseline - 3h)enxC	152,44	0,001	55,61	249,28
	(1h - 2h)enxC	-62,48	0,21	-159,31	34,36
	(1h - 3h)enxC	-26,69	0,59	-123,53	70,14
	(2h - 3h)enxC	35,78	0,47	-61,05	132,62

Óleos essenciais sem álcool (D)

Não foi capaz de reduzir os valores médios quando comparados aos valores iniciais ou aos demais tempos. Comparado ao *baseline* houve aumento dos valores ao final da terceira hora, porém insignificante (Tabela 21).

Tabela 21. Comparações entre os tempos para o enxaguante D

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
CH ₃ SH	(baseline - 1h)enxD	57,39	0,24	-39,44	154,23
	(baseline - 2h)enxD	-4,91	0,92	-101,74	91,93
	(baseline - 3h)enxD	-15,76	0,75	-112,59	81,08
	(1h - 2h)enxD	-62,30	0,21	-159,14	34,54
	(1h - 3h)enxD	-73,15	0,14	-169,99	23,69
	(2h - 3h)enxD	-10,85	0,83	-107,69	85,99

Em síntese, o enxaguante à base de óleos essenciais com álcool e cloreto de zinco foi o único capaz de reduzir significativamente os valores tanto de H₂S quanto CH₃SH na primeira hora e seu efeito perdurou durante as 3 horas do estudo abaixo dos valores iniciais (de modo significativo). Clinicamente apresentou-se como valores muito fracos ou imperceptíveis ao olfato humano após a 1^a, 2^a e 3^a horas. Apenas a 10cm de distância podia se perceber um hálito fraco, quando era possível.

Para o H₂S, os enxaguante à base de clorexidina com e sem álcool também obtiveram resultados satisfatórios de redução do hálito. Apenas o produto à base de óleos essenciais sem álcool que além de não ser capaz de reduzir o hálito, permitiu o aumento dos valores de H₂S registrados inicialmente.

Para o CH₃SH, nenhum enxaguante foi capaz de reduzir o hálito a partir dos valores iniciais que não aquele à base de óleos essenciais com álcool e cloreto de zinco em sua formulação. Essas informações podem ser melhor visualizadas nos gráficos a) e b) da Figura 4.

Baseado nessas informações pode-se elucidar as seguintes hipóteses:

H₁ = Ao fim de 3 horas, a eficácia de enxaguantes que contenham álcool em relação aos enxaguantes bucais livres de álcool.

Os produtos com álcool em sua composição conseguiram os melhores resultados para redução de H₂S mas, para o CH₃SH a clorexidina com álcool não foi capaz de reduzir o hálito de forma significativa, enquanto que o composto com álcool e cloreto de zinco (dos óleos essenciais) foi insuperável. Os enxaguantes sem álcool obtiveram os piores resultados, sendo os óleos essenciais possibilitou o aumento dos valores iniciais para ambos os gases ao final de 3 horas.

H₂ = A eficácia dos enxaguantes bucais para uso diário em relação àqueles com restrições de tempo de uso contínuo.

Somente o produto com os óleos essenciais, álcool e cloreto de zinco em sua fórmula foi eficaz para redução do hálito.

H₃ = A eficácia de um enxaguante bucal que contém o cloreto de zinco ativo em comparação com os outros sem esse ingrediente.

O único enxaguante que contém esse composto foi o que apresentou os melhores resultados na redução do hálito para ambos os gases.

H₄ = A eficácia dos enxaguantes, ao final de 3 horas, comparada ao valores do controle.

Comparado ao controle apenas um produto obteve resultado melhor. O enxaguante de óleos essenciais com álcool e cloreto de zinco em sua formulação.

Discussão

6. DISCUSSÃO

Não existem padrões definidos para o tratamento da halitose, e protocolos clínicos para o diagnóstico e tratamento deste problema variam muito, sem que haja consenso sobre um material ou uma técnica (101, 110, 111).

Este estudo foi idealizado com o desenho *crossover*, pois sua principal vantagem é a de eliminar a grande variação existente entre indivíduos em resposta a um tratamento, tendo em vista que todos os tratamentos são atribuídos a todos os indivíduos.

Dessa forma, cada paciente serve como seu próprio controle, o que aumenta a eficiência do estudo do ponto de vista estatístico, dada a necessidade de um menor número de participantes e tal desenho tem sido amplamente utilizado (59, 82, 96, 112-118).

Para que isso aconteça, cada tratamento deve ser reversível, seguir um curso semelhante durante todos os períodos e não deve haver efeito residual que se transfira de um tratamento a outro. Além disso, os indivíduos devem estar dispostos a receber todos os regimes de tratamento e cada período de tratamento deverá ter a duração suficiente para fornecer dados convincentes. Isso pode tornar um *crossover* de longo prazo um projeto impraticável (119).

Na presente investigação, não foi considerada a utilização do fio dental, pois, como demonstra a literatura, a presença de biofilme interdental não contribui significativamente para o aumento da concentração de CSVs na população saudável (101).

Tem-se como limitações do estudo a não realização da análise quantitativa dos valores organolépticos pela insuficiência de dados no registro durante o

andamento do estudo. Apesar de ser considerada como padrão ouro para fazer inferências sobre os resultados da melhora geral do hálito, os valores obtidos pelo equipamento de cromatografia gasosa nos permite fazer inferências mais precisas e assertivas sobre o comportamentos de cada composto. Na impossibilidade de levantar respostas definitivas quanto à eliminação dos odores bucais de cada voluntário (por ordem de possíveis compostos não identificados) e, por consequência, estabelecer protocolos de uso de enxaguantes, esse estudo se limita a tirar conclusões apenas sobre os principais odorívetores de origem intrabucal do mau hálito.

Os voluntários em sua maioria se surpreenderam, na pré-triagem, com os valores do próprio hálito encontrados pelo OralChromaTM, pois desconheciam a presença de sulfetos na cavidade bucal em concentrações relativamente altas (acima de 200ppb até 2200ppb para o sulfeto de hidrogênio, principal componente resultante da degradação de proteínas na superfície da língua). Além da fadiga olfativa que geralmente ocorre com a exposição prolongada a um odor, quando em condições de estimulação constante ao sulfeto de hidrogênio, a intensidade da percepção diminuir exponencialmente com o tempo de estimulação, mesmo quando eles estão presentes em concentrações muito inferiores aos níveis de efeitos clínicos (120).

Com relação às hipóteses levantadas, podemos analisar o seguinte:

A hipótese H_0 foi rejeitada por haver diferenças nas respostas entre os enxaguantes utilizados. Dessa forma, todos os produtos foram comparados entre si em cada tempo, e também foram comparados os tempos para cada produto, para cada um dos gases estudados. A análise será discutida de acordo com a apresentação dos resultados.

6.1 Comparações dos valores do *baseline* para H₂S e CH₃SH de cada enxaguante

De acordo com a tabela 6 dos resultados, não houve diferença entre os *baselines*. Isso é de fundamental importância para confirmar a ausência de efeito residual entre as intervenções e validar o período de eliminação dos ingredientes ativos dos produtos. De acordo com a Tabela 3 e Figura 1, as médias basais encontradas para o sulfeto de hidrogênio para todos os grupos ficaram acima de 400ppb para o H₂S, indicando valores de halitose forte, e para o CH₃SH as médias foram a partir de 150ppb, que também são considerados valores altos (limiar de 26ppb), 5 vezes maior do que o limiar de percepção desse gás. Esse último composto possui odor mais penetrante e mais que o sulfeto de hidrogênio. Assim, mesmo em concentrações menores seu odor pode se sobrepor mais facilmente a os demais (41). Para Tangerman e Winkel (2007) o índice de odor da metil-mercaptano (MM) é cerca de três vezes maior do que a do H₂S, o limiar de reconhecimento de MM é cerca de 1/30 do que o H₂S e o limiar de capacidade de objeção cerca de 1/8 do que o H₂S. Estes valores mostram que o MM tem um potencial de odor muito mais elevado do que o H₂S, indicando desconforto em concentrações muito mais baixas do que o H₂S. Estes resultados sugerem que MM é o fator causal predominante em halitose oral, que está de acordo com resultados e outros pesquisadores (121, 122).

6.2 Análises dos compostos

6.2.1 Análise do H₂S

6.2.1.1 Análise em cada tempo

6.2.1.1.1 Primeira hora

O Periogard® com e sem álcool e o Listerine Cuidado Total® conseguiram reduzir o valor do hálito a níveis muito menores do que o Listerine® Zero™ já na primeira hora.

Isso pode ser explicado pelo efeito antimicrobiano inerente da clorexidina, independente de componente álcool de sua composição contra micro-organismos anaeróbios gram-negativos produtores de H₂S (65, 73) (91).

O Listerine Cuidado Total® alcançou a menor média (cerca de 80ppb) estando abaixo do limiar de percepção. Em sua composição existe o álcool, que além de ser solvente dos óleos essenciais, possui um fator potencializador de penetração, tanto de células bacterianas quanto epiteliais, e também em sua composição há o cloreto de zinco que é facilmente solúvel em etanol e água, por ser íons metálico pode oxidar o composto de enxofre e torná-lo um produto não volátil (123). Os óleos essenciais são considerados como mascaradores do hálito, ou seja, com seu alto poder odorífero, podem se sobrepor ao odor dos compostos testados (65).

A propriedade do álcool nesse caso pode ser de fundamental importância, pois o cloreto de zinco sem álcool não foi capaz de ser superior à água destilada em um estudo recente de Kim e colaboradores, publicado esse ano (123). A

desvantagem desse produto foi a sensação intensa de ardência e lacrimejamento dos voluntários que resistiram com sacrifício aos 30s de bochecho com 20mL do produto.

O Listerine® Zero™, sem álcool em sua composição obteve valores médios muito superiores ao demais comparados, tido portanto o pior desempenho nesse momento, com uma média de 524ppb, correspondente a hálito muito forte.

A ausência do álcool e do cloreto de zinco podem ter influenciado no desempenho desse enxaguante de forma negativa. Os valores médios da primeira hora foram maiores do que os basais, ou seja, o enxaguante permitiu o aumento dos valores de H₂S. Os óleos essenciais não tiveram nem mesmo o efeito de mascaramento do hálito, o que é péssimo para esse produto, uma vez que a ausência do álcool é benéfica tanto para o conforto do paciente (queimação da mucosa) quanto para o uso contínuo, como é aclamada na recomendação do fabricante (65).

6.2.1.1.2 Segunda hora

Nesse momento, o efeito foi semelhante ao da hora anterior, porém a CHXc/a foi a que obteve melhor performance, talvez pela continuidade de sua ação antimicrobiana, chegando a uma média abaixo do limiar olfativo (102ppb), ou seja, o mau hálito já era (pela média) imperceptível na segunda hora. Em seguida ficaram os óleos essenciais com álcool e cloreto de zinco e a clorexidina sem álcool, nessa ordem, corroborando com outros resultados de estudos sobre os efeitos de neutralização dos compostos ou atividade antibacteriana desses agentes (59, 124)

6.2.1.1.3 Terceira hora

Ao final da terceira hora, os resultados permaneceram semelhantes ao anterior, sendo a clorexidina com álcool a mais eficaz de todos, talvez pela sua atividade antimicrobiana como está já foi explorado em outro trabalho nosso de até 3 horas com esse produto (78). O efeito dos óleos essenciais com álcool/cloreto de zinco e da clorexidina sem álcool também foram satisfatórios ao final desse tempo, indicando a diminuição direta ou indireta dos compostos (talvez pela oxidação desse CSV ou inibição bacteriana/celular). Estudos posteriores devem ser realizados para se confirmar tais efeitos.

De maneira oposta, o Listerine sem álcool não foi eficaz em reduzir o odor nesse tempo, elevando seus valores, de modo insignificante, quando comparado aos iniciais.

6.2.1.2 Comportamento de cada enxaguante ao longo das 3 horas

Clorexidina com álcool (A)

Houve uma redução significativa dos níveis de CSVs ao longo de todo o tempo quando comparados aos iniciais. Porém entre a primeira, segunda e terceira horas a redução não foi significativa entre si, ou seja, houve uma queda considerável na primeira hora que se manteve ao longo de todo o período do experimento. Considerado como controle positivo neste estudo e tido como padrão ouro de agente antiplaca e até então para halitose (125), esse produto afirmou sua validade. O grande problema da clorexidina são os efeitos indesejáveis de pigmentação dental, alteração do paladar que impede seu uso diário. A proposta desse trabalho foi

verificar a existência de uma alternativa tão ou mais eficaz para controlar o hálito como esse produto.

Dessa forma será considerado no final aquele(s) que possuir(em) melhores propriedades no controle dos compostos sulfurado voláteis de origem bucal e menos efeitos adversos associado ao seu uso contínuo.

A busca de um produto superior e de uso contínuo se baseia no fato de que as altas concentrações de compostos sulfurados voláteis devem ser combatidas localmente (cavidade bucal), já que ambos os gases (H_2S e CH_3SH) são produzidos endogenamente e contribuem para a homeostase humana e não são apenas produtos tóxicos ou desagradáveis do metabolismo bacteriano.

Geralmente o diagnóstico da halitose leva um tempo pra ser determinado em pacientes que buscam tratamento em função de vários fatores que podem estar associados e serem causadores da repulsa de pessoas próximas do portador. Produtos resultantes de necrose tecidual ou de fatores sistêmicos foram excluídos desse estudo para que isso não interferisse no comportamento dos gases estudados, uma vez que tais problema requerem outras abordagens (13, 18).

Mesmo pacientes saudáveis e aparentemente sem problemas bucais podem ser acometidos de halitose pela degradação de proteínas da saburra lingual ou presentes no fluido crevicular. Estudos mostram uma associação do H_2S a subprodutos bacterianos na língua e a formação de CH_3SH em condições de alterações periodontal (67, 68).

A higiene bucal com métodos de remoção mecânica do biofilme nem sempre é possível dentro desses nichos e apenas enxaguantes seriam capazes de penetrar mais profundamente e possuir uma ação mais duradoura.

Clorexidina sem álcool (B)

Com uma ação similar à sua versão com álcool, seu desempenho ao longo do tempo não foi diferente estatisticamente do controle, apesar de ter sido um pouco inferior. Pode ser uma opção válida a pacientes com restrições ao uso de álcool desde que não tenham níveis elevados de sulfetos (halitose severa) e que necessitem de controle antimicrobiano por curto período, como em pós-operatórios ou tratamentos de adequação de meio bucal, geralmente de duas semanas (126). Clinicamente os pacientes finalizavam o teste com mau hálito fraco, perceptível somente a menos de 10cm de distância.

Óleos essenciais com álcool e cloreto de zinco (C)

Com um melhor desempenho, dentre os demais produtos, para o controle de H₂S, teve eficácia já na primeira hora com valores médios abaixo do limiar olfativo e com reduções de sétima grandeza, ou seja, após uma hora os valores médios eram 7 vezes menores do que os iniciais e, ao final de 3 horas, foi inferior apenas ao controle, sendo assim uma alternativa válida para portadores de halitose severa de causa intrabucal sem restrições ao álcool por períodos superiores ao da clorexidina.

Óleos essenciais sem álcool (D)

Comprovada a falta de eficácia ao longo de todo o tempo do estudo (apesar de ser um apelo contra os efeitos indesejáveis do álcool) esse produto não pode ser utilizado com o intuito de reduzir o hálito pelos compostos sulfurados voláteis. Pior do que isso, permitiu o aumento, sem significância, dos níveis basais. Estudos adicionais devem ser conduzidos para avaliar seus efeitos sobre outros compostos (como os orgânicos voláteis, por exemplo) de origem putrefativa.

6.2.2 Análise do CH₃SH

Da relação entre os dois gases, já verificou-se que o H₂S pode sofrer metilação e produzir CH₃SH como uma alternativa menos tóxica ao organismo (detoxificação), e também como parte do processo de eliminação de H₂S (43).

O metanotiol ou metil-mercaptano é, dos três odorizantes sulfurados, a molécula com maior poder de odor e seu limiar de percepção é menor do que o do H₂S. Dessa forma, mesmo em concentrações baixas, ele pode ser mais perceptível. Nesse momento a cromatografia gasosa é importante para o diagnóstico mais preciso, por sua distinção dos compostos e especificidade (127).

Rejeitada a H₀ para o CH₃SH, houve diferenças entre os enxaguantes mas não para os *baselines*, demonstrando a ausência de efeito residual (*carry over*) entre o uso dos produtos para o metil-mercaptano.

6.2.2.1 Análise dos tempos

6.2.2.1.1 Primeira hora

O Listerine® com álcool e cloreto de zinco foi o mais eficaz na redução desse composto, seguido pela sua versão sem álcool. As bisguanidas não tiveram influência sobre esse composto, o que corrobora com a predileção de periodontistas por óleos essenciais no combate a bactérias periodontopatogênicas (128). Verifica-se então a relação direta e positiva que existe entre a atividade do óleo essencial e metanotiol e suas geradoras. Há também que se explorar, em futuros estudos, a possível penetrância do álcool e a participação do cloreto de zinco como oxidante

desse composto. Outro fator a ser considerado é a possibilidade de ter ocorrido a desmetilação do metanotiol em sulfeto de hidrogênio com o uso de óleos essenciais sem álcool.

6.2.2.1.2 Segunda hora

Não houve diferenças significantes entre os produtos testados. Apesar de um leve aumento do CH_3SH na segunda hora, comparada à primeira hora, não houve diferença entre os níveis desse com o dos demais produtos.

6.2.2.1.3 Terceira hora

Os óleos essenciais com álcool e zinco teve maior eficácia entre os demais se diferindo apenas de sua versão sem álcool que apresentou o pior resultado.

6.2.3 Comportamento de cada enxaguante ao longo das 3 horas

Clorexidina com álcool (A)

Não foi capaz de reduzir o hálito em nenhum dos tempos de maneira significativa.

Clorexidina sem álcool (B)

Não foi capaz de reduzir o hálito em nenhum dos tempos de maneira significativa, assim como sua versão sem álcool. Pode-se concluir que a presença ou não de álcool não foi capaz de influenciar no desempenho desse ingrediente sobre o metanotiol.

Óleos essenciais com álcool e cloreto de zinco (C)

Foi o único enxaguante que apresentou eficácia em todos os tempos comparado com os valores iniciais e seu efeito perdurou pelas 3 horas. Análise das reações químicas entre álcool, cloreto de zinco e os CSVs e da ação dessa associação sobre as bactérias proteolíticas são necessárias para elucidação desses mecanismos.

Óleos essenciais sem álcool (D)

Não apresentou eficácia em nenhum dos tempos. Assim como foi discutido anteriormente, é necessário avaliar o efeito desses produtos sobre demais compostos orgânicos voláteis.

Os seres humanos só são capazes de identificar de três a quatro componentes de misturas olfativas complexas e os odores presentes na mistura afetam quais componentes individuais são detectados (120).

A utilização da cromatografia gasosa se mostrou um método eficaz, de fácil aplicação e isento de qualquer influência do clínico na mensuração da halitose. O preço ainda é proibitivo para consultórios particulares, mas é uma interessante opção para clínicas odontológicas e pesquisa.

Conclusões

7 CONCLUSÕES

Ao final da etapa clínica, com a adesão e permanência dos 21 voluntários, durante todo o estudo, em função dos resultados obtidos e dentro das limitações exploradas na discussão do trabalho, é lícito concluir que:

- O enxaguatório à base de óleos essenciais, álcool e cloreto de zinco foi o único capaz de reduzir com eficiência o hálito pelo controle dos compostos sulfurados voláteis (odorivetores) de origem bucal por até três horas após bochecho único;
- A eliminação do álcool e a ausência do cloreto de zinco do Listerine na sua nova versão “Zero” teve efeito negativo na eficácia do produto contra a halitose de origem bucal;
- O controle teve o segundo melhor desempenho, sendo eficaz apenas contra os odorivetores sulfidretos. A versão sem álcool também pode ser uma opção nos casos onde a proibição do álcool é imperativa. A eliminação do álcool não alterou de modo significativo o desempenho da clorexidina;
- Pode-se indicar os produtos à base de óleos essenciais com álcool e cloreto de zinco com mais eficácia, e também o digluconato de clorexidina com ou sem álcool para o controle químico das halitoses de origem bucal, com a ressalva que apenas os óleos essenciais são aprovados para uso contínuo;
- Os OEs “Zero” não apresentaram ação no combate às halitoses de origem bucal.

Referências

8 REFERÊNCIAS¹

1. Tseng WS. Halitosis: could it be a predictor of stroke? *Med Hypotheses*. 2014;82(3):335-7.
2. Choi SJ, Jang BH, Lee SJ, Min BK, Rothschild A, Kim ID. Selective detection of acetone and hydrogen sulfide for the diagnosis of diabetes and halitosis using SnO(2) nanofibers functionalized with reduced graphene oxide nanosheets. *ACS applied materials & interfaces*. 2014;6(4):2588-97.
3. Fukui Y, Yaegaki K, Murata T, Sato T, Tanaka T, Imai T, et al. Diurnal changes in oral malodour among dental-office workers. *Int Dent J*. 2008;58(3):159-66.
4. Tonzetich J, Johnson PW. Chemical analysis of thiol, disulphide and total sulphur content of human saliva. *Arch Oral Biol*. 1977;22(2):125-31.
5. Delanghe G, Ghyselen J, Bollen C, van Steenberghe D, Vandekerckhove BN, Feenstra L. An inventory of patients' response to treatment at a multidisciplinary breath odor clinic. *Quintessence Int*. 1999;30(5):307-10.
6. Massler M, Emslie RD, Bolden TE. Fetor ex ore; a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1951;4(1):110-25.
7. Scully C, Porter S, Greenman J. What to do about halitosis. *BMJ*. 1994;308(6923):217-8.
8. Tonzetich J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and methods of analysis. *J Periodontol*. 1977;48(1):13-20.
9. Rosenberg M, Septon I, Eli I, Bar-Ness R, Gelernter I, Brenner S, et al. Halitosis measurement by an industrial sulphide monitor. *J Periodontol*. 1991;62(8):487-9.
10. Rosenberg M, Kulkarni GV, Bosy A, McCulloch CA. Reproducibility and sensitivity of oral malodor measurements with a portable sulphide monitor. *J Dent Res*. 1991;70(11):1436-40.

¹ UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Sistema Integrado de Bibliotecas. **Diretrizes para apresentação de Dissertações e Teses da USP:** documento eletrônico e impresso. Parte IV (Vancouver). São Paulo: SIBi/USP, 2013. 96p.

11. Rosenberg M, McCulloch CA. Measurement of oral malodor: current methods and future prospects. *J Periodontol*. 1992;63(9):776-82.
12. Rosenberg M. [Bad breath: diagnosis and management]. *Harefuah*. 1995;128(8):513-6.
13. Yaegaki K, Coil JM. Genuine halitosis, pseudo-halitosis, and halitophobia: classification, diagnosis, and treatment. *Compend Contin Educ Dent*. 2000;21(10A):880-6, 8-9; quiz 90.
14. Coil JM, Yaegaki K, Matsuo T, Miyazaki H. Treatment needs (TN) and practical remedies for halitosis. *Int Dent J*. 2002;52 Suppl 3:187-91.
15. Dalton P, Wysocki CJ. The nature and duration of adaptation following long-term odor exposure. *Percept Psychophys*. 1996;58(5):781-92.
16. Eli I, Baht R, Koriath H, Rosenberg M. Self-perception of breath odor. *J Am Dent Assoc*. 2001;132(5):621-6.
17. Brening RH, Sulser GF, Fosdick LS. The Determination of Halitosis by Use of the Osmoscope and the Cryoscopic Method. *Journal of Dental Research*. 1939;18(2):127-32.
18. Yaegaki K, Coil JM. Examination, classification, and treatment of halitosis; clinical perspectives. *J Can Dent Assoc*. 2000;66(5):257-61.
19. Rosenberg M. Clinical assessment of bad breath: current concepts. *J Am Dent Assoc*. 1996;127(4):475-82.
20. Persson S, Claesson R, Carlsson J. The capacity of subgingival microbiotas to produce volatile sulfur compounds in human serum. *Oral Microbiol Immunol*. 1989;4(3):169-72.
21. Persson S, Edlund MB, Claesson R, Carlsson J. The formation of hydrogen sulfide and methyl mercaptan by oral bacteria. *Oral Microbiol Immunol*. 1990;5(4):195-201.
22. Kleinberg I, Westbay G. Salivary and metabolic factors involved in oral malodor formation. *J Periodontol*. 1992;63(9):768-75.
23. Polhemus DJ, Calvert JW, Butler J, Lefer DJ. The cardioprotective actions of hydrogen sulfide in acute myocardial infarction and heart failure. *Scientifica*. 2014;2014:768607.

24. Zhao Y, Biggs TD, Xian M. Hydrogen sulfide (H₂S) releasing agents: chemistry and biological applications. *Chem Commun (Camb)*. 2014;50(80):11788-805.
25. Yu XH, Cui LB, Wu K, Zheng XL, Cayabyab FS, Chen ZW, et al. Hydrogen sulfide as a potent cardiovascular protective agent. *Clin Chim Acta*. 2014;437:78-87.
26. Levitt MD, Furne J, Springfield J, Suarez F, DeMaster E. Detoxification of hydrogen sulfide and methanethiol in the cecal mucosa. *J Clin Invest*. 1999;104(8):1107-14.
27. Barr LA, Calvert JW. Discoveries of hydrogen sulfide as a novel cardiovascular therapeutic. *Circ J*. 2014;78(9):2111-8.
28. Lo Faro ML, Fox B, Whatmore JL, Winyard PG, Whiteman M. Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation. *Nitric Oxide*. 2014;41C:38-47.
29. Zhang X, Bian JS. Hydrogen Sulfide: A Neuromodulator and Neuroprotectant in the Central Nervous System. *ACS chemical neuroscience*. 2014.
30. Eto K, Asada T, Arima K, Makifuchi T, Kimura H. Brain hydrogen sulfide is severely decreased in Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;293(5):1485-8.
31. Yetik-Anacak G, Sorrentino R, Linder AE, Murat N. Gas what: NO is not the only answer to sexual function. *Br J Pharmacol*. 2014.
32. Pan WJ, Fan WJ, Zhang C, Han D, Qu SL, Jiang ZS. HS, a novel therapeutic target in renal-associated diseases? *Clin Chim Acta*. 2014;438C:112-8.
33. Papapetropoulos A, Whiteman M, Cirino G. Pharmacological tools for hydrogen sulphide research: a brief, introductory guide for beginners. *Br J Pharmacol*. 2014.
34. Kimura H. Signaling of Hydrogen Sulfide and Polysulfides. *Antioxid Redox Signal*. 2014.
35. Szabo C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov*. 2007;6(11):917-35.
36. Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed. *Physiological reviews*. 2012;92(2):791-896.

37. Kamoun P. Endogenous production of hydrogen sulfide in mammals. *Amino Acids*. 2004;26(3):243-54.
38. Beauchamp RO, Jr., Bus JS, Popp JA, Boreiko CJ, Andjelkovich DA. A critical review of the literature on hydrogen sulfide toxicity. *Critical reviews in toxicology*. 1984;13(1):25-97.
39. Polhemus DJ, Lefer DJ. Emergence of hydrogen sulfide as an endogenous gaseous signaling molecule in cardiovascular disease. *Circulation research*. 2014;114(4):730-7.
40. Wang R. Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? *FASEB J*. 2002;16(13):1792-8.
41. Tangerman A, Winkel EG. Intra- and extra-oral halitosis: finding of a new form of extra-oral blood-borne halitosis caused by dimethyl sulphide. *J Clin Periodontol*. 2007;34(9):748-55.
42. Hu LF, Lu M, Hon Wong PT, Bian JS. Hydrogen sulfide: neurophysiology and neuropathology. *Antioxid Redox Signal*. 2011;15(2):405-19.
43. Furne J, Springfield J, Koenig T, DeMaster E, Levitt MD. Oxidation of hydrogen sulfide and methanethiol to thiosulfate by rat tissues: a specialized function of the colonic mucosa. *Biochem Pharmacol*. 2001;62(2):255-9.
44. Loesche WJ, Kazor C. Microbiology and treatment of halitosis. *Periodontol* 2000. 2002;28:256-79.
45. Quirynen M, Avontroodt P, Soers C, Zhao H, Pauwels M, van Steenberghe D. Impact of tongue cleansers on microbial load and taste. *J Clin Periodontol*. 2004;31(7):506-10.
46. Wennstrom JL. Mouthrinses in "experimental gingivitis" studies. *J Clin Periodontol*. 1988;15(8):511-6.
47. Loesche WJ. The effects of antimicrobial mouthrinses on oral malodor and their status relative to US Food and Drug Administration regulations. *Quintessence Int*. 1999;30(5):311-8.
48. Schmidt NF, Tarbet WJ. The effect of oral rinses on organoleptic mouth odor ratings and levels of volatile sulfur compounds. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1978;45(6):876-83.

-
49. Pitts G, Brogdon C, Hu L, Masurat T, Pianotti R, Schumann P. Mechanism of action of an antiseptic, anti-odor mouthwash. *J Dent Res*. 1983;62(6):738-42.
50. Yaegaki K, Suetaka T. [Fractionation of the salivary cellular elements by Percoll density gradient centrifugation and the distribution of oral malodour precursors]. *Shigaku*. 1989;77(1):269-75.
51. Rosenberg M. Halitosis--the need for further research and education. *J Dent Res*. 1992;71(2):424.
52. Kozlovsky A, Goldberg S, Natour I, Rogatky-Gat A, Gelernter I, Rosenberg M. Efficacy of a 2-phase oil: water mouthrinse in controlling oral malodor, gingivitis, and plaque. *J Periodontol*. 1996;67(6):577-82.
53. Nachnani S. The effects of oral rinses on halitosis. *J Calif Dent Assoc*. 1997;25(2):145-50.
54. Silwood CJ, Grootveld MC, Lynch E. A multifactorial investigation of the ability of oral health care products (OHCPs) to alleviate oral malodour. *J Clin Periodontol*. 2001;28(7):634-41.
55. van Steenberghe D, Avontroodt P, Peeters W, Pauwels M, Coucke W, Lijnen A, et al. Effect of different mouthrinses on morning breath. *J Periodontol*. 2001;72(9):1183-91.
56. Rosing CK, Jonski G, Rolla G. Comparative analysis of some mouthrinses on the production of volatile sulfur-containing compounds. *Acta Odontol Scand*. 2002;60(1):10-2.
57. van Steenberghe D. Breath malodor. *Curr Opin Periodontol*. 1997;4:137-43.
58. Brunette DM, Proskin HM, Nelson BJ. The effects of dentifrice systems on oral malodor. *J Clin Dent*. 1998;9(3):76-82.
59. Carvalho MD, Tabchoury CM, Cury JA, Toledo S, Nogueira-Filho GR. Impact of mouthrinses on morning bad breath in healthy subjects. *J Clin Periodontol*. 2004;31(2):85-90.
60. Roldan S, Herrera D, O'Connor A, Gonzalez I, Sanz M. A combined therapeutic approach to manage oral halitosis: a 3-month prospective case series. *J Periodontol*. 2005;76(6):1025-33.

61. Fine DH, Furgang D, Sinatra K, Charles C, McGuire A, Kumar LD. In vivo antimicrobial effectiveness of an essential oil-containing mouth rinse 12 h after a single use and 14 days' use. *J Clin Periodontol*. 2005;32(4):335-40.
62. Tonzetich J. Oral malodour: an indicator of health status and oral cleanliness. *Int Dent J*. 1978;28(3):309-19.
63. Ng W, Tonzetich J. Effect of hydrogen sulfide and methyl mercaptan on the permeability of oral mucosa. *J Dent Res*. 1984;63(7):994-7.
64. van den Broek AM, Feenstra L, de Baat C. A review of the current literature on management of halitosis. *Oral Dis*. 2008;14(1):30-9.
65. Fedorowicz Z, Aljufairi H, Nasser M, Outhouse TL, Pedrazzi V. Mouthrinses for the treatment of halitosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008(4):CD006701.
66. Jones CG. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol* 2000. 1997;15:55-62.
67. Murata T, Yamaga T, Iida T, Miyazaki H, Yaegaki K. Classification and examination of halitosis. *Int Dent J*. 2002;52 Suppl 3:181-6.
68. van den Broek AM, Feenstra L, de Baat C. A review of the current literature on aetiology and measurement methods of halitosis. *J Dent*. 2007;35(8):627-35.
69. Awano S, Gohara K, Kurihara E, Ansai T, Takehara T. The relationship between the presence of periodontopathogenic bacteria in saliva and halitosis. *Int Dent J*. 2002;52 Suppl 3:212-6.
70. Tonzetich J, Richter VJ. Evaluation of Volatile Odoriferous Components of Saliva. *Arch Oral Biol*. 1964;16:39-46.
71. Nakano Y, Yoshimura M, Koga T. Methyl mercaptan production by periodontal bacteria. *Int Dent J*. 2002;52 Suppl 3:217-20.
72. Quirynen M, Zhao H, Avontroodt P, Soers C, Pauwels M, Coucke W, et al. A salivary incubation test for evaluation of oral malodor: a pilot study. *J Periodontol*. 2003;74(7):937-44.
73. Brading MG, Marsh PD. The oral environment: the challenge for antimicrobials in oral care products. *Int Dent J*. 2003;53(6 Suppl 1):353-62.

-
74. Waler SM. The effect of some metal ions on volatile sulfur-containing compounds originating from the oral cavity. *Acta Odontol Scand.* 1997;55(4):261-4.
75. Bolanowski SJ, Gescheider GA, Sutton SV. Relationship between oral pain and ethanol concentration in mouthrinses. *J Periodontal Res.* 1995;30(3):192-7.
76. Young A, Jonski G, Rolla G. Inhibition of orally produced volatile sulfur compounds by zinc, chlorhexidine or cetylpyridinium chloride--effect of concentration. *Eur J Oral Sci.* 2003;111(5):400-4.
77. Thrane PS, Young A, Jonski G, Rolla G. A new mouthrinse combining zinc and chlorhexidine in low concentrations provides superior efficacy against halitosis compared to existing formulations: a double-blind clinical study. *J Clin Dent.* 2007;18(3):82-6.
78. Oliveira-Neto JM, Sato S, Pedrazzi V. How to deal with morning bad breath: A randomized, crossover clinical trial. *Journal of Indian Society of Periodontology.* 2013;17(6):757-61.
79. Seemann R, Conceicao MD, Filippi A, Greenman J, Lenton P, Nachnani S, et al. Halitosis management by the general dental practitioner--results of an international consensus workshop. *Journal of breath research.* 2014;8(1):017101.
80. Hopewell S, Clarke M, Moher D, Wager E, Middleton P, Altman DG, et al. CONSORT for reporting randomized controlled trials in journal and conference abstracts: explanation and elaboration. *PLoS Med.* 2008;5(1):e20.
81. Haraszthy VI, Zambon JJ, Sreenivasan PK, Zambon MM, Gerber D, Rego R, et al. Identification of oral bacterial species associated with halitosis. *J Am Dent Assoc.* 2007;138(8):1113-20.
82. Peruzzo DC, Jandiroba PF, Nogueira Filho Gda R. Use of 0.1% chlorine dioxide to inhibit the formation of morning volatile sulphur compounds (VSC). *Braz Oral Res.* 2007;21(1):70-4.
83. Greenman J, Lenton P, Seemann R, Nachnani S. Organoleptic assessment of halitosis for dental professionals--general recommendations. *Journal of breath research.* 2014;8(1):017102.
84. Laleman I, Dadamio J, De Geest S, Dekeyser C, Quirynen M. Instrumental assessment of halitosis for the general dental practitioner. *Journal of breath research.* 2014;8(1):017103.

85. Doty RL, Shaman P, Kimmelman CP, Dann MS. University of Pennsylvania Smell Identification Test: a rapid quantitative olfactory function test for the clinic. *Laryngoscope*. 1984;94(2 Pt 1):176-8.
86. Bornstein MM, Kislig K, Hoti BB, Seemann R, Lussi A. Prevalence of halitosis in the population of the city of Bern, Switzerland: a study comparing self-reported and clinical data. *Eur J Oral Sci*. 2009;117(3):261-7.
87. Greenman J, Rosenberg M. Proceedings of the Sixth International Conference on Breath Odor. *Oral Dis*. 2005;11 Suppl 1:5-6.
88. Tsunoda M, Sato H, Ohkushi T. [The experimental study for the effect of sodium copper chlorophyllin in halitosis (author's transl)]. *Nippon Shishubyo Gakkai Kaishi*. 1981;23(3):490-8.
89. Hatt H. Molecular and cellular basis of human olfaction. *Chem Biodivers*. 2004;1(12):1857-69.
90. Johnson DE. Crossover experiments. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*. 2010;2(5):620-5.
91. Roldan S, Herrera D, Santa-Cruz I, O'Connor A, Gonzalez I, Sanz M. Comparative effects of different chlorhexidine mouth-rinse formulations on volatile sulphur compounds and salivary bacterial counts. *J Clin Periodontol*. 2004;31(12):1128-34.
92. Solis-Gaffar MC, Niles HP, Rainieri WC, Kestenbaum RC. Instrumental evaluation of mouth odor in a human clinical study. *J Dent Res*. 1975;54(2):351-7.
93. Bollen CML, Beikler T. Halitosis: the multidisciplinary approach. *In J Oral Sci*. 2012;4(2):55-63.
94. Tangerman A, Winkel EG. The portable gas chromatograph OralChroma: a method of choice to detect oral and extra-oral halitosis. *Journal of breath research*. 2008;2(1):017010.
95. Tonzetich J, Ng SK. Reduction of malodor by oral cleansing procedures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1976;42(2):172-81.
96. Pedrazzi V, Sato S, de Mattos Mda G, Lara EH, Panzeri H. Tongue-cleaning methods: a comparative clinical trial employing a toothbrush and a tongue scraper. *J Periodontol*. 2004;75(7):1009-12.

97. Rosenberg M, Gelernter I, Barki M, Bar-Ness R. Day-long reduction of oral malodor by a two-phase oil:water mouthrinse as compared to chlorhexidine and placebo rinses. *J Periodontol*. 1992;63(1):39-43.
98. Thaweboon S, Thaweboon B. Effect of an essential oil-containing mouth rinse on VSC-producing bacteria on the tongue. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2011;42(2):456-62.
99. Wigger-Alberti W, Gysen K, Axmann EM, Wilhelm KP. Efficacy of a new mouthrinse formulation on the reduction of oral malodour in vivo. A randomized, double-blind, placebo-controlled, 3 week clinical study. *Journal of breath research*. 2010;4(1):017102.
100. Harper PR, Milsom S, Wade W, Addy M, Moran J, Newcombe RG. An approach to efficacy screening of mouthrinses: studies on a group of French products (II). Inhibition of salivary bacteria and plaque in vivo. *J Clin Periodontol*. 1995;22(9):723-7.
101. Faveri M, Hayacibara MF, Pupio GC, Cury JA, Tsuzuki CO, Hayacibara RM. A cross-over study on the effect of various therapeutic approaches to morning breath odour. *J Clin Periodontol*. 2006;33(8):555-60.
102. Van Strydonck DA, Demoor P, Timmerman MF, van der Velden U, van der Weijden GA. The anti-plaque efficacy of a chlorhexidine mouthrinse used in combination with toothbrushing with dentifrice. *J Clin Periodontol*. 2004;31(8):691-5.
103. Kolahi J, Soolari A, Ghalayani P, Varshosaz J, Fazilaty M. Newly formulated chlorhexidine gluconate chewing gum that gives both anti-plaque effectiveness and an acceptable taste: a double blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Int Acad Periodontol*. 2008;10(2):38-44.
104. Sreenivasan P. The effects of a triclosan/copolymer dentifrice on oral bacteria including those producing hydrogen sulfide. *Eur J Oral Sci*. 2003;111(3):223-7.
105. Sreenivasan PK, Gittins E. The effects of a chlorhexidine mouthrinse on culturable microorganisms of the tongue and saliva. *Microbiol Res*. 2004;159(4):365-70.
106. Franco Neto CA, Parolo CC, Rosing CK, Maltz M. Comparative analysis of the effect of two chlorhexidine mouthrinses on plaque accumulation and gingival bleeding. *Braz Oral Res*. 2008;22(2):139-44.

107. Laird NM, Ware JH. Random-Effects Models for Longitudinal Data. *Biometrics*. 1982;38(4):963-74.
108. Levine M, Ensom MH. Post hoc power analysis: an idea whose time has passed? *Pharmacotherapy*. 2001;21(4):405-9.
109. Lindhe J, Lang NP, Karring T. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*: Wiley; 2009.
110. Rosenberg M. The science of bad breath. *Sci Am*. 2002;286(4):72-9.
111. Cicek Y, Orbak R, Tezel A, Orbak Z, Erciyas K. Effect of tongue brushing on oral malodor in adolescents. *Pediatr Int*. 2003;45(6):719-23.
112. Shinada K, Ueno M, Konishi C, Takehara S, Yokoyama S, Kawaguchi Y. A randomized double blind crossover placebo-controlled clinical trial to assess the effects of a mouthwash containing chlorine dioxide on oral malodor. *Trials*. 2008;9:71.
113. Bordas A, McNab R, Staples AM, Bowman J, Kanapka J, Bosma MP. Impact of different tongue cleaning methods on the bacterial load of the tongue dorsum. *Arch Oral Biol*. 2008;53 Suppl 1:S13-8.
114. Newby EE, Hickling JM, Hughes FJ, Proskin HM, Bosma MP. Control of oral malodour by dentifrices measured by gas chromatography. *Arch Oral Biol*. 2008;53 Suppl 1:S19-25.
115. Haas AN, Silveira EM, Rosing CK. Effect of tongue cleansing on morning oral malodour in periodontally healthy individuals. *Oral Health Prev Dent*. 2007;5(2):89-94.
116. Farrell S, Barker ML, Walanski A, Gerlach RW. Short-term effects of a combination product night-time therapeutic regimen on breath malodor. *J Contemp Dent Pract*. 2008;9(6):1-8.
117. Shinada K, Ueno M, Konishi C, Takehara S, Yokoyama S, Zaitzu T, et al. Effects of a mouthwash with chlorine dioxide on oral malodor and salivary bacteria: a randomized placebo-controlled 7-day trial. *Trials*. 2010;11:14.
118. Peruzzo DC, Salvador SL, Sallum AW, Nogueira-Filho Gda R. Flavoring agents present in a dentifrice can modify volatile sulphur compounds (VSCs) formation in morning bad breath. *Braz Oral Res*. 2008;22(3):252-7.

-
119. Burns DR, Elswick RK, Jr. Equivalence testing with dental clinical trials. *J Dent Res.* 2001;80(6):1513-7.
120. Greenberg MI, Curtis JA, Vearrier D. The perception of odor is not a surrogate marker for chemical exposure: a review of factors influencing human odor perception. *Clinical toxicology.* 2013;51(2):70-6.
121. Tangerman A. Halitosis in medicine: a review. *Int Dent J.* 2002;52 Suppl 3:201-6.
122. Awano S, Koshimune S, Kurihara E, Gohara K, Sakai A, Soh I, et al. The assessment of methyl mercaptan, an important clinical marker for the diagnosis of oral malodor. *J Dent.* 2004;32(7):555-9.
123. Kim JS, Park JW, Kim DJ, Kim YK, Lee JY. Direct effect of chlorine dioxide, zinc chloride and chlorhexidine solution on the gaseous volatile sulfur compounds. *Acta Odontol Scand.* 2014.
124. Farrell S, Baker RA, Somogyi-Mann M, Witt JJ, Gerlach RW. Oral malodor reduction by a combination of chemotherapeutical and mechanical treatments. *Clin Oral Investig.* 2006;10(2):157-63.
125. Cortelli JR, Barbosa MD, Westphal MA. Halitosis: a review of associated factors and therapeutic approach. *Braz Oral Res.* 2008;22 Suppl 1:44-54.
126. Beiswanger BB, Mallat ME, Jackson RD, Mau MS, Farah CF, Bosma ML, et al. Clinical effects of a 0.12% chlorhexidine rinse as an adjunct to scaling and root planing. *J Clin Dent.* 1992;3(2):33-8.
127. Vandekerckhove B, Van den Velde S, De Smit M, Dadamio J, Teughels W, Van Tornout M, et al. Clinical reliability of non-organoleptic oral malodour measurements. *J Clin Periodontol.* 2009;36(11):964-9.
128. Lakhdar L, Hmamouchi M, Rida S, Ennibi O. Antibacterial activity of essential oils against periodontal pathogens: a qualitative systematic review. *Odontostomatol Trop.* 2012;35(140):38-46.

Apêndices

9 APÊNDICES

Apêndice A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ao Paciente e Carta Convite

CONVITE PARA PARTICIPAR DE PESQUISA CLÍNICA

Você está sendo convidado para participar do estudo de pesquisa “**Controle químico das halitoses de origem bucal por meio de enxaguantes bucais: avaliação por meio de cromatografia gasosa e teste organoléptico**”. A decisão de participar neste estudo é totalmente sua. Você pode se recusar ou decidir parar de participar desta pesquisa a qualquer momento e por qualquer razão.

Por favor, leia cuidadosamente toda a informação a seguir. Peça para explicar quaisquer palavras, termos ou seções que não estejam claras para você. Você também pode perguntar qualquer dúvida que você tenha sobre esta pesquisa. Não assine este formulário de consentimento a menos que tenha compreendido toda a informação contida nele e tenha esclarecido satisfatoriamente todas as suas dúvidas. Se você decidir participar deste estudo, será solicitado para você assinar este formulário. **Você receberá uma cópia deste formulário assinado.** Você deve manter sua cópia guardada em seus arquivos. Este documento apresenta informações incluindo, nomes e números de telefones importantes, que você poderá necessitar no futuro.

Rubrica do pesquisador

responsável _____

Rubrica do voluntário

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos você, _____ para participar voluntariamente do projeto de pesquisa “**Controle químico das halitoses de origem bucal por meio de enxaguantes bucais: avaliação por meio de cromatografia gasosa e teste organoléptico**”, tendo como pesquisador responsável o doutorando Jeronimo Manço de Oliveira Neto e a Prof. Dr. Vinícius Pedrazzi, professor da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP.

Declaro que tomarei ciência e que fui esclarecido (a) de maneira a não restarem quaisquer dúvidas sobre minha participação no estudo, de acordo com os termos abaixo relacionados.

Você será informado que:

- 1) O objetivo deste estudo será avaliar a eficácia de enxaguantes bucais disponíveis no mercado brasileiro na redução o hálito bucal e medir por quanto tempo o efeito será duradouro, em comparação a um outro sem princípio ativo.
- 2) Estas análises serão feitas usando diferentes métodos, como a avaliação do odor bucal pelo olfato dos examinadores e com a análise feita por aparelho de cromatografia gasosa portátil para qualificar e quantificar os compostos do hálito.
- 3) Você receberá um kit contendo uma escova dental, um tubo de dentifrício com flúor e será instruído a não utilizar nenhum tipo de enxaguantes durante uma semana.
- 4) Após a primeira semana será feita a utilização de um enxaguante escolhido de acordo com a sequência pré-estabelecida de uso dos produtos, na clínica da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo.
- 5) O estudo será feito em um dia da semana, pela manhã, e serão feitas restrições, no dia anterior às visitas clínicas, de alimentos que possam gerar odor forte do hálito (alho, cebola, ovo e repolho) em função de sua metabolização pelo sangue. E será ainda feita a restrição da higiene bucal durante a manhã da avaliação.
- 6) Após o experimento clínico, você será instruído a permanecer por mais uma semana sem fazer uso de qualquer tipo de enxaguante bucal, até o final de todos ensaio clínico, de 5 semanas.
- 7) Esse tratamento não é irreversível e por isso provavelmente não acarretará nenhum transtorno permanente.
- 8) Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido é **SOMENTE** para autorizar a utilização dos dados em um levantamento dos valores do hálito e suas quantificações além dos dados e qualidade de vida pela Escala de Impacto da Halitose (EIH)®.
- 09) Não será oferecido nenhum tipo de pagamento ao voluntário da pesquisa pela sua participação.
- 10) Você terá total liberdade em não participar da pesquisa, sem nenhum prejuízo.
- 11) A identidade do voluntário da pesquisa será mantida em segredo e que terá total liberdade para pedir maiores esclarecimentos antes e durante o desenvolvimento da pesquisa. Se tiver qualquer dúvida, você poderá ligar para o pesquisador e/ou Comitê de Ética em Pesquisa para pedir qualquer informação sobre o projeto.
- 12) Participando desta pesquisa, você autoriza, para os devidos fins, o uso, a divulgação e publicação em revistas científicas dos dados obtidos e terá, por parte dos pesquisadores, a garantia do sigilo (segredo) que garante a sua privacidade.

13) Saiba que não terá benefício direto com este estudo, mas ao autorizar sua participação, os resultados encontrados poderão ajudar outras pessoas.

14) O voluntário da pesquisa terá permissão para fazer qualquer pergunta sobre tudo o que acontecer na pesquisa e que estará livre para cancelar (tirar) seu consentimento e parar a sua participação nesta pesquisa a qualquer momento, sem nenhum prejuízo.

Fui informado de todo conteúdo deste documento e concordo em participar desta pesquisa, por isso assino o mesmo.

Ribeirão Preto, ____ de ____ de 2014.

Eu, _____, portador (a) do RG

nº _____, residente à _____,

nº _____, na cidade de _____. Fone: (____) _____,

Estado: _____, estou ciente das informações acima e concordo a participar da pesquisa.

Assinatura do Voluntário da Pesquisa _____

Prof. Dr. Vinícius Pedrazzi _____

Jeronimo Manço de Oliveira Neto _____

Telefones para contato: Prof. Dr. Vinícius (16) 98139-2764 ou 3602-4008. Secretária do CEP: Ana Ap. F. do Nascimento - Avenida do Café, s/n.º - 14040-904 – Ribeirão Preto/SP Telefones: (16) 3602-4122 / 3963

Apêndice B: Questionários de saúde geral, dental e de halitose

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
 Departamento de Materiais Dentários e Prótese

**Anamnese - História médica e dental**

Problemas de coração (arritmia, angina, infarto, Chagas..)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Doenças circulatórias (hipertensão, aterosclerose, trombose, varizes)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Diabete Melito insulino-dependente () não insulino-dependente ()	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Doenças Respiratórias (tuberculose, câncer, bronquite, rinite, sinusite)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Problemas nas articulações (artrite reumatoide, gota, reumatismo)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Já sangrou excessivamente (local, conduta e causa)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Doenças no sangue (anemia, leucemia, hemofilia, problemas de coagulação)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Problemas de estômago (gastrite, úlcera, má digestão)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Problema no rim (pedra, transplante, diálise)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Problema no fígado (cirrose, hepatite, esteatose hepática)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Problema neurológico (epilepsia, convulsão, depressão, Parkinson)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Já fez radioterapia () quimioterapia para () tumor ou câncer ()	SIM () NÃO () NÃO SABE ()

Problema hormonal (tireóide, paratireoide, hormônios sexuais)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Tem osteoporose	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Tomou corticoide nos últimos 12 meses (cortisona, decadron)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
É alérgico a medicamento (anestesia, penicilina, antibiótico, aspirina, dipirona)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
É alérgico a alguma coisa (látex, comida)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Tem alguma doença sexualmente transmissível (gonorreia, sífilis, herpes, verruga, AIDS)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Tem mais de um parceiro sexual	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Usa proteção contra DST	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Tem ou teve alguma ferida na genitália. Qual?	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
É doador de sangue	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Já fez transfusão de sangue	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Já foi hospitalizado (data e motivo)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Tem algum problema que não foi perguntado e que seja importante relatar	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Você está grávida	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Está na menopausa	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Já fez reposição hormonal (qual medicamento)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Fez retirada de útero () ovário ()	SIM () NÃO () NÃO SABE ()

Já fez auto- exame da boca?	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
A escova dental que você utiliza é só sua? Frequência de escovação: _____	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Usa fio dental?	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Tem hábitos de morder: () língua () bochecha () lábio () objeto () apertar os dentes	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Teve trauma na () cabeça () face () pescoço	SIM () NÃO () NÃO SABE ()
Já teve alguma complicação durante o tratamento odontológico (hemorragia, lipotimia, alergia a anestésico ou medicação)	SIM () NÃO () NÃO SABE ()

Questionário de Halitose

Como você sabe que tem mau hálito?	☐ Comunicação não verbal de outras pessoas ☐ Alguém de disse ☐ Eu sei
Quando foi a primeira vez que você percebeu o mau hálito?	☐ anos atrás ☐meses atrás ☐semanas atrás
Quão intenso você acha que é o seu mau hálito?	☐ muito intenso ☐ médio ☐ fraco
Nomeie uma situação na qual você tomou consciência de possuir mau hálito.	
Você sofre de estresse?	☐ sim, e muito. ☐ sim ☐ médio ☐ pouco
Quando você experimentar a sua halitose com mais frequência?	☐ após despertar ☐ quando estou com fome ou com sede ☐ quando estou cansado ☐ constantemente ao longo do dia ☐ não trabalho ☐ quando falo com outras pessoas ☐ outros.....
Com que frequência você tem halitose?	☐ uma vez por mês ☐ uma vez por semana ☐ diariamente ☐ sempre
Você fuma?	☐ não ☐ sim Se assinalou sim, indique quantos cigarros você fuma em um dia:
Qual é a sua profissão?	Você está estressado por seu trabalho? ☐ sim ☐ não
Você reconhece uma relação entre o seu trabalho e sua halitose?	☐ sim ☐ não
Descreva o seu mau hálito tão precisamente quanto possível (ex: amargo, queimação, falta, florido, frutado, alho, fecal, ranço, fedido, doce):	
Será que o seu mau hálito afeta sua vida social? Se sim, de que maneira?	
A que distância você acha que seu mau hálito é perceptível?	☐ 30 centímetros ☐ um metro ☐ mais de um metro
Existem alguma cobertura/saburra em sua língua?	☐ sim ☐ não

Quantas vezes você escova os dentes?	vezes ao dia
Sua gengiva sangra?	☐ sim ☐ não
Você usa fio dental?	☐ sim ☐ não
Você usa um antisséptico bucal?	☐ não ☐ sim se sim, com que frequência? vezes por..... Marca do enxaguante:.....
Você é alérgico a alguma coisa?	☐ não ☐ sim se sim, ao que?.....
Você costuma sofrer de resfriado? Você frequentemente tem que limpar o seu nariz?	☐ não ☐ sim
Você sofre de xerostomia (boca seca)?	☐ não ☐ sim Se sim, com que frequência? Vezes por
Você acha que você tem mau hálito no momento?	☐ não ☐ sim
Atualmente, você tomar a medicação da seguinte tipos?	☐ antibióticos ☐ spray de asma ☐ antiácidos ☐ antidepressivos ☐ outra medicação
O que você acha que é a origem de sua halitose?	☐ boca ☐ nariz ☐ ambos
O que você fez sobre o seu mau hálito até agora?	☐ nada ☐ enxaguante ☐ goma de mascar ☐ "doces" ☐ evitar certos alimentos, a saber..... ☐ outros.....
Você consultou quaisquer outros profissionais por causa de sua halitose (por exemplo, dentista, clínico geral, ETN)	☐ não ☐ sim se sim, quando? se sim, qual(is) tipo(s) de profissional(is)? ☐ dentista ☐ clínico geral ☐ Otorrinolaringologista ☐ médico de medicina interna ☐ outros.....

O que esse médico / estes médicos fazem quanto a sua halitose?	☐ exame da boca ☐ exame de garganta ☐ exame dos seios maxilares ☐ exame de estômago ☐ Exame de sangue ☐ de raios-X ☐ gastroscopia ☐ tratamento dentário ☐ outro
Esses médicos prescreveram ou recomendaram qualquer medicação?	☐ Não ☐ sim se sim, quais? ☐ antibióticos ☐ antiácidos ☐ enxaguantes ☐ pastilhas ☐ outros:.....
Você já foi tratado para a halitose por uma técnica alternativa / holística (quiropático, homeopata)?	☐ Não ☐ sim se sim, que tipo de tratamento?
Você já sofreu ou sofre de uma ou mais das seguintes doenças ou condições?	☐ sinusite ☐ doenças do nariz ☐ Problemas de estômago ☐ doenças do pulmão ou os brônquios? ☐ doenças do fígado ☐ xerostomia ☐ condições psíquicas ☐ outro:.....
Você mantém uma dieta especial?	☐ Não ☐ sim se sim, qual?.....
Alguma vez você encontrou um dos seguintes problemas por causa de seu mau hálito:	☐ Eu evito falar com outras pessoas ☐ Eu sou tímido, sempre que alguém se aproxima de mim ☐ Eu não gosto de conhecer outras pessoas ☐ I não consigo começar um relacionamento ☐ outras pessoas me evitam ☐ outros: ☐ Não, Nenhum desses problemas.
Você está chocado com a reação das outras pessoas para com o seu mau hálito	☐ Não ☐ sim se sim, qual reação seu hálito evocou/suscitou?
Tem certeza que essa reação foi evocada por seu hálito?	☐ Não ☐ sim

Escala de Impacto da Halitose (EIH)[®]

A consciência que tenho do meu hálito...	Nunca	Raramente	Algumas vezes	Muitas vezes	Sempre
1 – Limita-me o falar					
2 – Faz-me distanciar quando estou a conversar					
3 – Limita-me o falar em lugares menores ou fechados					
4 – Faz-me comunicar mais por gestos ou sinais					
5 – Faz-me tapar a minha boca com a mão					
6 – Limita a minha abertura bucal quando estou a falar					
7 – Limita a minha forma de expirar					
8 – Provoca reações negativas nos outros					
9 – Leva-me a usar chicletes ou a fumar					
10 – Interfere com as minhas relações íntimas					
11 – Faz-me escovar os dentes pelo menos 5 vezes ao dia					
12 – Restringe a minha vida social					
13 – Faz-me ficar nervoso/ansioso					
14 – Diminui a minha vontade de viver a vida					
15 – Faz-me pensar no suicídio					

Anexos

10 ANEXOS

Anexo A: Report estatístico

Análise Exploratória de Dados

Tabela 1. Resumo das medidas em cada tempo e cada enxaguante.

Tempo	Enx	Var	N	Média	Desv. Padrão	Mínimo	Media	Max	IC 95%	
									LI	LS
Baseline	A	resp H ₂ S	21	561,38	498,40	182,00	393,00	2037,00	334,51	788,25
		CH ₃ SH	21	179,81	218,99	0,00	162,00	873,00	80,13	279,49
	B	resp H ₂ S	21	614,62	472,67	162,00	423,00	1674,00	399,46	829,78
		CH ₃ SH	21	171,86	185,57	0,00	95,00	678,00	87,39	256,33
	C	resp H ₂ S	21	587,62	578,42	160,00	410,00	2406,00	324,33	850,91
		CH ₃ SH	21	219,48	193,43	0,00	184,00	622,00	131,43	307,52
	D	resp H ₂ S	21	426,43	346,59	160,00	349,00	1730,00	268,66	584,20
		CH ₃ SH	21	158,86	181,41	0,00	95,00	609,00	76,28	241,43
1h	A	resp H ₂ S	21	165,76	215,52	0,00	68,00	771,00	67,66	263,87
		CH ₃ SH	21	194,81	210,81	0,00	162,00	868,00	98,85	290,77
	B	resp H ₂ S	21	233,10	335,74	0,00	96,00	1220,00	80,27	385,92
		CH ₃ SH	21	179,19	183,90	0,00	129,00	529,00	95,48	262,90
	C	resp H ₂ S	21	80,90	191,95	0,00	2,00	860,00	-6,47	168,28
		CH ₃ SH	21	42,43	63,02	0,00	0,00	178,00	13,74	71,12
	D	resp H ₂ S	21	524,81	621,45	0,00	245,00	2406,00	241,93	807,69
		CH ₃ SH	21	101,62	163,16	0,00	9,00	609,00	27,35	175,89
2h	A	resp H ₂ S	21	102,00	135,14	0,00	48,00	418,00	40,49	163,51
		CH ₃ SH	21	172,10	173,33	0,00	129,00	600,00	93,20	250,99
	B	resp H ₂ S	21	256,67	515,15	0,00	50,00	2153,00	22,17	491,16
		CH ₃ SH	21	189,48	255,08	0,00	124,00	959,00	73,37	305,59
	C	resp H ₂ S	21	117,38	265,00	0,00	16,00	961,00	-3,25	238,01
		CH ₃ SH	21	102,48	159,27	0,00	32,00	657,00	29,98	174,98
	D	resp H ₂ S	21	472,81	514,89	0,00	260,00	1733,00	238,43	707,19
		CH ₃ SH	21	160,86	190,95	0,00	77,00	717,00	73,94	247,77
3h	A	resp H ₂ S	21	62,57	92,64	0,00	13,00	309,00	20,40	104,74
		CH ₃ SH	21	110,57	140,32	0,00	77,00	516,00	46,70	174,44
	B	resp H ₂ S	21	202,19	476,43	0,00	58,00	2200,00	-14,68	419,06
		CH ₃ SH	21	156,05	268,45	0,00	32,00	1171,00	33,85	278,25
	C	resp H ₂ S	21	173,19	358,25	0,00	5,00	1179,00	10,12	336,26
		CH ₃ SH	21	66,14	136,40	0,00	9,00	591,00	4,05	128,23
	D	resp H ₂ S	21	545,19	556,86	5,00	307,00	1941,00	291,71	798,67
		CH ₃ SH	21	174,57	199,28	0,00	83,00	687,00	83,86	265,28

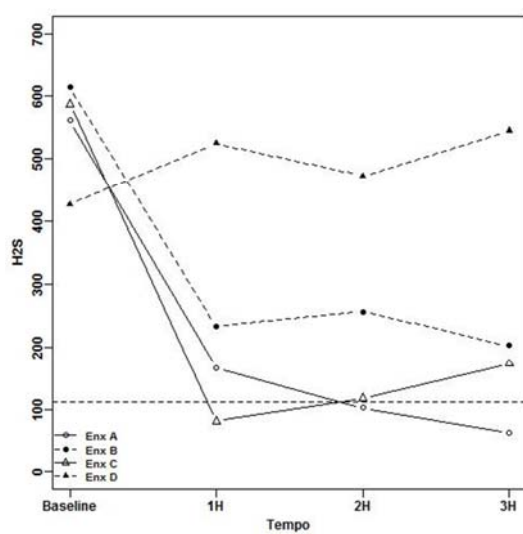
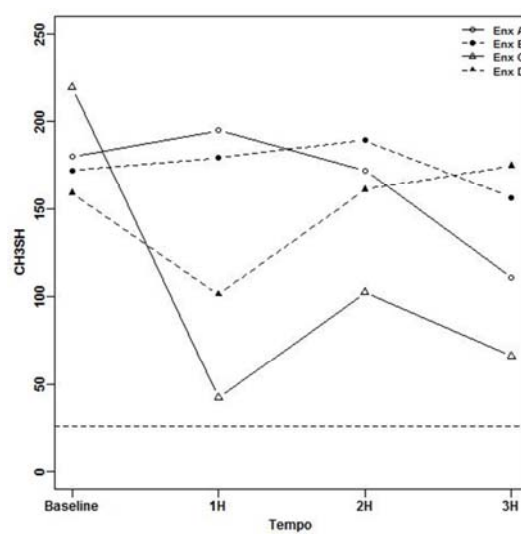
a) H_2S b) CH_3SH

Figura 1. Gráfico de linha das variáveis em estudo em relação ao tempo, em cada enxaguante.

Resultados

Tabela 2. Resultado das comparações das médias das variáveis H₂S e CH₃SH por regressão linear de efeitos mistos.

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
H ₂ S	ABCD - BADC	136,40	0,46	-227,31	500,11
	ABCD - CDAB	50,42	0,78	-297,80	398,65
	ABCD - DCBA	101,03	0,58	-262,69	464,74
	BADC - CDAB	-85,98	0,63	-434,20	262,25
	BADC - DCBA	-35,38	0,85	-399,09	328,34
	CDAB - DCBA	50,60	0,78	-297,63	398,83
	(ABCD - BADC)enx A	47,00	0,82	-356,71	450,71
	(ABCD - CDAB)enx A	-8,65	0,96	-395,17	377,87
	(ABCD - DCBA)enx A	60,70	0,77	-343,01	464,41
	(BADC - CDAB)enx A	-55,65	0,78	-442,17	330,87
	(BADC - DCBA)enx A	13,70	0,95	-390,01	417,41
	(CDAB - DCBA)enx A	69,35	0,72	-317,17	455,87
	(ABCD - BADC)enx B	296,40	0,15	-107,31	700,11
	(ABCD - CDAB)enx B	-39,93	0,84	-426,45	346,60
	(ABCD - DCBA)enx B	219,00	0,29	-184,71	622,71
	(BADC - CDAB)enx B	-336,33	0,09	-722,85	50,20
	(BADC - DCBA)enx B	-77,40	0,71	-481,11	326,31
	(CDAB - DCBA)enx B	258,93	0,19	-127,60	645,45
	(ABCD - BADC)enx C	223,50	0,28	-180,21	627,21
	(ABCD - CDAB)enx C	265,58	0,18	-120,94	652,10
	(ABCD - DCBA)enx C	191,65	0,35	-212,06	595,36
	(BADC - CDAB)enx C	42,08	0,83	-344,44	428,60
	(BADC - DCBA)enx C	-31,85	0,88	-435,56	371,86
	(CDAB - DCBA)enx C	-73,93	0,71	-460,45	312,59
	(ABCD - BADC)enx D	-21,30	0,92	-425,01	382,41
	(ABCD - CDAB)enx D	-15,32	0,94	-401,84	371,20
	(ABCD - DCBA)enx D	-67,25	0,74	-470,96	336,46
	(BADC - CDAB)enx D	5,98	0,98	-380,54	392,50
	(BADC - DCBA)enx D	-45,95	0,82	-449,66	357,76
	(CDAB - DCBA)enx D	-51,93	0,79	-438,45	334,59
	(enx A - B)	-97,74	0,05	-196,76	1,28
	(enx A - C)	-22,98	0,65	-122,00	76,04
	(enx A - D)	-271,48	<,0001	-370,50	-172,46
	(enx B - C)	74,76	0,14	-24,26	173,78
	(enx B - D)	-173,74	0,001	-272,76	-74,72
	(enx C - D)	-248,50	<,0001	-347,52	-149,48
	(enx A - B)baseline	-41,27	0,68	-239,31	156,77
	(enx A - C)baseline	-42,72	0,67	-240,76	155,32

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
	(enx A - D)baseline	128,04	0,20	-70,00	326,08
	(enx B - C)baseline	-1,45	0,99	-199,49	196,59
	(enx B - D)baseline	169,31	0,09	-28,73	367,35
	(enx C - D)baseline	170,76	0,09	-27,28	368,80
	(enx A - B)1H	-55,02	0,58	-253,06	143,02
	(enx A - C)1H	85,30	0,40	-112,74	283,34
	(enx A - D)1H	-359,08	0,001	-557,12	-161,04
	(enx B - C)1H	140,32	0,16	-57,72	338,36
	(enx B - D)1H	-304,07	0,001	-502,11	-106,03
	(enx C - D)1H	-444,38	<,0001	-642,42	-246,34
	(enx A - B)2H	-151,37	0,13	-349,41	46,67
	(enx A - C)2H	-21,44	0,83	-219,48	176,60
	(enx A - D)2H	-371,67	0,001	-569,71	-173,63
	(enx B - C)2H	129,92	0,20	-68,11	327,96
	(enx B - D)2H	-220,30	0,03	-418,34	-22,26
	(enx C - D)2H	-350,22	0,001	-548,26	-152,19
	(enx A - B)3H	-143,32	0,16	-341,36	54,71
	(enx A - C)3H	-113,06	0,26	-311,10	84,98
	(enx A - D)3H	-483,21	<,0001	-681,25	-285,17
	(enx B - C)3H	30,27	0,76	-167,77	228,31
	(enx B - D)3H	-339,88	0,001	-537,92	-141,84
	(enx C - D)3H	-370,15	0,001	-568,19	-172,11
	(baseline - 1h)enxA	393,12	0,001	195,09	591,16
	(baseline - 2h)enxA	460,46	<,0001	262,42	658,50
	(baseline - 3h)enxA	499,30	<,0001	301,26	697,34
	(1h - 2h)enxA	67,33	0,50	-130,71	265,37
	(1h - 3h)enxA	106,17	0,29	-91,86	304,21
	(2h - 3h)enxA	38,84	0,70	-159,20	236,88
	(baseline - 1h)enxB	379,37	0,001	181,34	577,41
	(baseline - 2h)enxB	350,36	0,001	152,32	548,40
	(baseline - 3h)enxB	397,24	0,001	199,20	595,28
	(1h - 2h)enxB	-29,02	0,77	-227,06	169,02
	(1h - 3h)enxB	17,87	0,86	-180,17	215,91
	(2h - 3h)enxB	46,88	0,64	-151,16	244,92
	(baseline - 1h)enxC	521,14	<,0001	323,10	719,18
	(baseline - 2h)enxC	481,73	<,0001	283,69	679,77
	(baseline - 3h)enxC	428,96	<,0001	230,92	627,00
	(1h - 2h)enxC	-39,41	0,70	-237,45	158,63
	(1h - 3h)enxC	-92,18	0,36	-290,22	105,86
	(2h - 3h)enxC	-52,78	0,60	-250,81	145,26
	(baseline - 1h)enxD	-94,00	0,35	-292,04	104,04

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
CH ₃ SH	(baseline - 2h)enxD	-39,25	0,70	-237,29	158,79
	(baseline - 3h)enxD	-111,95	0,27	-309,99	86,09
	(1h - 2h)enxD	54,75	0,59	-143,29	252,79
	(1h - 3h)enxD	-17,95	0,86	-215,99	180,09
	(2h - 3h)enxD	-72,70	0,47	-270,74	125,34
	ABCD - BADC	30,49	0,69	-119,87	180,85
	ABCD - CDAB	28,22	0,70	-115,74	172,18
	ABCD - DCBA	76,38	0,32	-73,99	226,74
	BADC - CDAB	-2,26	0,98	-146,23	141,70
	BADC - DCBA	45,89	0,55	-104,47	196,25
	CDAB - DCBA	48,15	0,51	-95,81	192,11
	(ABCD - BADC)enx A	21,95	0,80	-151,10	195,00
	(ABCD - CDAB)enx A	-0,71	0,99	-166,39	164,98
	(ABCD - DCBA)enx A	103,55	0,24	-69,50	276,60
	(BADC - CDAB)enx A	-22,66	0,79	-188,34	143,03
	(BADC - DCBA)enx A	81,60	0,35	-91,45	254,65
	(CDAB - DCBA)enx A	104,26	0,22	-61,43	269,94
	(ABCD - BADC)enx B	96,95	0,27	-76,10	270,00
	(ABCD - CDAB)enx B	31,29	0,71	-134,39	196,98
	(ABCD - DCBA)enx B	94,85	0,28	-78,20	267,90
	(BADC - CDAB)enx B	-65,66	0,44	-231,34	100,03
	(BADC - DCBA)enx B	-2,10	0,98	-175,15	170,95
	(CDAB - DCBA)enx B	63,56	0,45	-102,13	229,24
	(ABCD - BADC)enx C	-20,60	0,81	-193,65	152,45
	(ABCD - CDAB)enx C	31,95	0,70	-133,74	197,64
	(ABCD - DCBA)enx C	45,55	0,60	-127,50	218,60
	(BADC - CDAB)enx C	52,55	0,53	-113,14	218,24
	(BADC - DCBA)enx C	66,15	0,45	-106,90	239,20
	(CDAB - DCBA)enx C	13,60	0,87	-152,09	179,29
	(ABCD - BADC)enx D	23,65	0,79	-149,40	196,70
	(ABCD - CDAB)enx D	50,36	0,55	-115,33	216,04
	(ABCD - DCBA)enx D	61,55	0,48	-111,50	234,60
	(BADC - CDAB)enx D	26,71	0,75	-138,98	192,39
	(BADC - DCBA)enx D	37,90	0,67	-135,15	210,95
	(CDAB - DCBA)enx D	11,19	0,89	-154,49	176,88
	(enx A - B)	-10,18	0,68	-58,59	38,24
	(enx A - C)	54,33	0,03	5,91	102,75
	(enx A - D)	13,04	0,60	-35,38	61,46
	(enx B - C)	64,50	0,01	16,08	112,92
	(enx B - D)	23,22	0,35	-25,20	71,63
	(enx C - D)	-41,29	0,09	-89,70	7,13

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
	(enx A - B)baseline	5,86	0,91	-90,98	102,69
	(enx A - C)baseline	-41,94	0,39	-138,78	54,89
	(enx A - D)baseline	19,65	0,69	-77,19	116,49
	(enx B - C)baseline	-47,80	0,33	-144,64	49,04
	(enx B - D)baseline	13,79	0,78	-83,04	110,63
	(enx C - D)baseline	61,59	0,21	-35,24	158,43
	(enx A - B)1H	19,65	0,69	-77,19	116,49
	(enx A - C)1H	153,07	0,001	56,24	249,91
	(enx A - D)1H	92,93	0,06	-3,91	189,76
	(enx B - C)1H	133,43	0,01	36,59	230,26
	(enx B - D)1H	73,28	0,14	-23,56	170,11
	(enx C - D)1H	-60,15	0,22	-156,99	36,69
	(enx A - B)2H	-17,86	0,72	-114,69	78,98
	(enx A - C)2H	65,14	0,19	-31,69	161,98
	(enx A - D)2H	5,17	0,92	-91,67	102,00
	(enx B - C)2H	83,00	0,09	-13,84	179,84
	(enx B - D)2H	23,03	0,64	-73,81	119,86
	(enx C - D)2H	-59,98	0,22	-156,81	36,86
	(enx A - B)3H	-48,35	0,33	-145,19	48,49
	(enx A - C)3H	41,03	0,40	-55,80	137,87
	(enx A - D)3H	-65,58	0,18	-162,41	31,26
	(enx B - C)3H	89,38	0,07	-7,45	186,22
	(enx B - D)3H	-17,23	0,73	-114,06	79,61
	(enx C - D)3H	-106,61	0,03	-203,44	-9,77
	(baseline - 1h)enxA	-15,88	0,75	-112,72	80,95
	(baseline - 2h)enxA	9,58	0,85	-87,26	106,41
	(baseline - 3h)enxA	69,47	0,16	-27,37	166,30
	(1h - 2h)enxA	25,46	0,61	-71,38	122,29
	(1h - 3h)enxA	85,35	0,08	-11,49	182,19
	(2h - 3h)enxA	59,89	0,22	-36,94	156,73
	(baseline - 1h)enxB	-2,09	0,97	-98,93	94,74
	(baseline - 2h)enxB	-14,14	0,77	-110,98	82,69
	(baseline - 3h)enxB	15,26	0,76	-81,58	112,09
	(1h - 2h)enxB	-12,05	0,81	-108,89	84,79
	(1h - 3h)enxB	17,35	0,72	-79,49	114,19
	(2h - 3h)enxB	29,40	0,55	-67,44	126,24
	(baseline - 1h)enxC	179,13	0,001	82,30	275,97
	(baseline - 2h)enxC	116,66	0,02	19,82	213,49
	(baseline - 3h)enxC	152,44	0,001	55,61	249,28
	(1h - 2h)enxC	-62,48	0,21	-159,31	34,36
	(1h - 3h)enxC	-26,69	0,59	-123,53	70,14

Variável	Comparações	Estimativa da diferença entre as médias	Valor P	IC 95%	
				LI	LS
	(2h - 3h)enxC	35,78	0,47	-61,05	132,62
	(baseline - 1h)enxD	57,39	0,24	-39,44	154,23
	(baseline - 2h)enxD	-4,91	0,92	-101,74	91,93
	(baseline - 3h)enxD	-15,76	0,75	-112,59	81,08
	(1h - 2h)enxD	-62,30	0,21	-159,14	34,54
	(1h - 3h)enxD	-73,15	0,14	-169,99	23,69
	(2h - 3h)enxD	-10,85	0,83	-107,69	85,99

Anexo B: Aprovação do projeto e relatório parcial na Plataforma Brasil

aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil/visao/pesquisador/gerirPesquisa/gerirPesquisa.jsf

Mais visitados Primeiros passos Últimas notícias

Saúde
Ministério da Saúde

Plataforma Brasil

principal central de suporte

Público Pesquisador Alterar Meus Dados

Vinicius Pedrazzi - Pesquisador | V

Cadastros Sua sessão expira em: 37m

Você está em: Pesquisador > Gerir Pesquisa > Detalhar Projeto de Pesquisa

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

Dados do Projeto de Pesquisa

Título da Pesquisa: Controle químico das halitoses de origem bucal por meio de enxaguantes bucais: avaliação por cromatografia gasosa e teste organoléptico
 Pesquisador: Vinicius Pedrazzi
 Área Temática:
 Versão: 3
 CAAE: 02122812.8.0000.5419
 Submetido em: 28/01/2014
 Instituição Proponente: Universidade de São Paulo
 Situação: Aprovado
 Localização atual do Projeto: Pesquisador Responsável
 Patrocinador Principal: CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO

Documentos Postados do Projeto

Tipo Documento	Situação	Arquivo	Postagem
Parecer Consubstanciado do CEP	A	PB PARECER CONSUBSTANCIADO CEP 541212 E2.pdf	25/02/2014 17:57:12
Interface REBEC	A	PB XML INTERFACE REBEC E2.xml	28/01/2014 12:54:55
Informações Básicas do Projeto	A	PB INFORMAÇÕES BÁSICAS 258627 E2.pdf	28/01/2014 12:54:54
Projeto Detalhado	A	Projeto Doutorado Jeronimo 04-12-2013.docx	04/12/2013 11:37:59
Outros	A	formacomprp2011.doc	28/06/2013 11:19:16
Parecer Consubstanciado da CONEP	A	PB PARECER CONSUBSTANCIADO CONEP 47598.pdf	29/06/2012 15:24:14
Folha de Rosto	A	Folha de Rosto Pedrazzi.pdf	04/04/2012 09:39:48
Declarações Diversas	A	Declaracao Participacao Pacientes.doc	04/04/2012 08:59:47
TCLE - Modelo de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	A	TCLE Jeronimo.doc	04/04/2012 08:58:39

[Listar Todos »](#)

Anexo C: Importa Fácil Ciência



Ministério da
Ciência, Tecnologia
e Inovação



Of. COCIF nº 29 /14

Brasília, 26 de março de 2014.

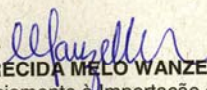
À
Secretaria de Fazenda do Estado de São Paulo

Senhores,

Por intermédio do Convênio ICMS nº 57, celebrado em 1º/07/2005, publicado no Diário Oficial da União de 05/07/05, o Conselho Nacional de Política Fazendária - CONFAZ alterou itens do Convênio ICMS nº 03/1998, que autoriza a concessão da isenção da cobrança de ICMS na importação de bens destinados a pesquisas científicas realizadas pelos pesquisadores e cientistas credenciados, no âmbito de projetos aprovados por este Conselho.

Posto isso, para fins de aplicação da isenção do ICMS aos bens amparados pelos Licenciamentos Simplificados de Importação - LSI's nºs 14/0000847-5, 14/0000848-3, 14/0000846-7 (substitutivos dos LSI's 14/0000081-4, 14/0000082-2, 14/0000084-9) e 14/0000083-0, e respectiva Declaração Simplificada de Importação - DSI nº 14/0006190-0, referentes às importações realizadas pelo pesquisador **Vinícius Pedrazzi**, Departamento de Materiais Dentários e Prótese da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP, detentor do CPF nº **073.494.138-23**, cujo credenciamento de nº **920.005625/2013**, com prazo de validade até 29/08/2018, foi publicado no D.O.U. de 30/08/2013 (seção 1, página 7), atestamos que tanto a importação quanto o projeto de pesquisa "**Controle químico das halitoses de origem bucal por meio de enxaguantes bucais: avaliação por meio de cromatografia gasosa e teste organoléptico**" foram aprovados pelo CNPq, de conformidade com os termos previstos na Lei nº 10.964/2004, que alterou a Lei nº 8.010/1990, e ainda no âmbito do programa *Ciência Importa Fácil*.
(<http://www.cnpq.br/web/guest/pessoa-fisica>)

Atenciosamente,


NÍVIA D'APARECIDA MELO WANZELLER
Coordenadora de Credenciamento à Importação e Incentivo Fiscal
PO nº 143/2013

Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação

Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico
Coordenação de Credenciamento à Importação e
Incentivo Fiscal - COCIF/CGADM/DGTI
SHIS Quadra 01 Conjunto B - Bloco B - 1º andar
Edifício Santos Dumont - Lago Sul
71605-001 Brasília - DF

Telefone +55 61 3211 9180
Fax +55 61 3211 9372
e-mail: credenciamento@cnpq.br