

Determinação da Atividade Antimicrobiana de Soluções Utilizadas na Higiene Bucal de Bebês

Determination of the Antimicrobial Activity of Solutions Used in Infant Oral Hygiene

Adriana MODESTO*

Kenio Costa LIMA**

Milton de UZEDA***

MODESTO, A.; LIMA, K.C.; UZEDA, M. de. Determinação da atividade antimicrobiana de soluções utilizadas na higiene bucal de bebês. *J Bras Odontopediatr Odontol Bebê*, Curitiba, v.6, n.29, p.18-23, jan./fev. 2003.

O objetivo deste estudo foi avaliar e comparar o efeito antimicrobiano de soluções utilizadas na higiene bucal sobre a microbiota de bebês. Após a coleta de "pool" de saliva não-estimulada e placa dental de 20 bebês, foi realizado o teste de difusão em ágar. Através dos resultados obtidos e analisados por Anova e teste de Tukey, verificou-se que as soluções controle, de bicarbonato de sódio e a obtida da infusão de *Matricaria chamomilla* não apresentaram efeito antimicrobiano, independente da concentração. A solução de H₂O₂ (3%) e a de NaF (0,02%) apresentaram um efeito significativo ($p < 0,01$), sendo que a solução de H₂O₂ apresentou uma ação superior ($p < 0,01$) à de NaF, independente da origem do inóculo.

**Professor do Departamento de Odontologia da UFRN

*** Professor do Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes da UFRJ

INTRODUÇÃO

Um dos métodos mais utilizados no controle da formação e do desenvolvimento do biofilme dentário é o da higiene bucal (MARTINS *et al.*, 1998). A promoção da limpeza dos dentes é uma atividade preventiva que se modifica com a idade da criança (NOWAK & CASAMASSIMO, 1995).

Atualmente, considera-se importante que os procedimentos básicos de higiene bucal da criança comecem durante o primeiro ano de vida. Dessa forma, são recomendadas a limpeza e a massagem da gengiva antes mesmo da irrupção do primeiro dente decíduo, para favorecer o estabelecimento de uma microbiota saudável e para ajudar o processo de irrupção dos dentes em um meio-ambiente limpo, sem resíduos alimentares e biofilmes (MOSS, 1993; DEAN & HUGHES, 1995).

Usualmente, preconiza-se que a limpeza da cavidade bucal edêntula ou com a presença apenas dos dentes anteriores seja realizada pelos pais com uma compressa de gaze esterilizada, um chumaço

de algodão, uma ponta de fralda ou uma dedeira de silicone ou látex (MOSS, 1993; DEAN & HUGHES, 1995; WALTER *et al.*, 1996).

Em um estudo sobre os conhecimentos e as atitudes de alguns pediatras da cidade do Rio de Janeiro a respeito de aspectos da saúde bucal do bebê, Ribeiro *et al.* (1999) verificaram que as soluções mais preconizadas para a limpeza da cavidade bucal de bebês eram: água, solução de bicarbonato de sódio, solução salina ou soro fisiológico e solução de peróxido de hidrogênio (3%) diluída.

Camargo (1998) recomenda, para a limpeza da cavidade bucal infantil, passar sobre os rodets gengivais e no vestíbulo bucal uma gaze esterilizada embebida numa solução obtida da infusão de camomila (*Matricaria chamomilla*), pois apresenta ação anti-séptica, efeito refrescante e um sabor agradável que proporcionará uma desejável satisfação associada ao ato da higiene.

Freqüentemente, quando os profissionais vão orientar os pais sobre a higiene bucal indicam uma solução para usar como adjuvante aos mé-

PALAVRAS-CHAVE: Criança; Antiinfeciosos locais; Higiene bucal.

*Professora da Disciplina de Odontopediatria da FO-UFRJ; Rua Andrade Pertence, 25/202, Catete – CEP 22220-010, Rio de Janeiro, RJ; e-mail: modesto@acd.ufrj.br

todos mecânicos de limpeza da cavidade bucal, sem que haja comprovação científica do impacto que isso poderá causar na microbiota oral do bebê. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar o efeito antimicrobiano de soluções sobre a microbiota representativa da saliva não-estimulada e da placa dental de bebês.

MATERIAL E MÉTODO

Seleção dos pacientes e coleta da saliva não-estimulada e da placa dental

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Pesquisa em Humanos do Núcleo de Saúde Coletiva (NESC) da UFRJ-RJ, e foi obtido por escrito, antes do seu início, o consentimento livre e esclarecido dos pais ou responsáveis dos bebês que participaram.

Foram selecionados 20 bebês de acordo com os seguintes critérios: a) estar iniciando o tratamento na Clínica de Bebês da Odontopediatria da FO-UFRJ; b) assinatura do termo de consentimento pelos pais/responsáveis, após tomarem conhecimento e serem esclarecidos sobre os objetivos da pesquisa, seus riscos e benefícios; c) apresentar uma boa saúde geral; d) não ter feito uso de qualquer antibiótico sistêmico ou local ou antimicrobiano oral nos últimos seis meses; e) não apresentar lesões cáries incipientes ou avançadas; f) possuir apenas os dentes anteriores irrupcionados.

Um "pool" de saliva não-estimulada foi coletado de cada bebê com um "swab" estéril. De cada "pool", 0,5ml foi diluído em 0,5ml de solução salina estéril (NaCl a 0,85%), solicitando-se, posteriormente, que as mães não higienizassem a boca do bebê por 24 horas. Após esse período, foi coletado, com uma cureta estéril, a partir das superfícies livres dos dentes, um "pool" de placa dental de cada bebê. Posteriormente, 5mg de cada "pool" de placa dental foram transferidos e diluídos em 0,5ml de solução salina estéril.

Soluções testadas

As soluções selecionadas para serem avaliadas no presente estudo foram: solução salina (controle); solução de bicarbonato de sódio a 10%; solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 3%; solução obtida da infusão de *Matricaria chamomilla* (1g de flores secas/250ml de água) e solução de fluoreto de sódio (NaF) a 0,02% (90ppm). Todas as soluções foram diluídas seriadamente com água deionizada estéril até a diluição final de 1/128.

Avaliação dos efeitos das soluções

A avaliação dos efeitos das soluções foi realizada pelo teste de difusão em ágar para verificar

se ocorria inibição do crescimento microbiano. Com o objetivo de controlar o estudo e assegurar a sua reprodutibilidade, os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos em médias.

O inóculo preparado a partir do "pool" de saliva não-estimulada ou de placa dental previamente coletado e diluído foi padronizado utilizando-se um espectrofotômetro (Spectronic 20D – Milton Roy, USA) com uma absorvância de 0,08 a 0,10 a 625nm, correspondendo ao padrão 0,5 da escala de McFarland (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*, 1997).

Para testar as soluções, as placas de Petri contendo ágar *Brain Heart Infusion* (BHI – Becton Dickinson and Co., Cockeysville – MD) com 25ml do meio de cultura por placa de Petri inicialmente foram semeadas e pré-incubadas a 25°C, por 2 horas. Nove discos de papel de filtro com 6mm de diâmetro foram aplicados sobre a superfície das placas de Petri inoculadas com o auxílio de uma pinça estéril. Cada disco foi impregnado com 13µl da solução e todos os discos foram suavemente pressionados sobre o ágar para assegurar um contato completo com a sua superfície. Os discos de papel foram dispostos de forma que não houvesse uma distância superior a 15mm em relação às bordas da placa de Petri, e distantes o suficiente para não ocorrer sobreposição dos halos de inibição do crescimento microbiano. Subseqüentemente, as placas de Petri foram incubadas em anaerobiose a 37°C, por 48 horas, ao final de cujo período os diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano formados foram medidos (mm) por um único leitor devidamente treinado a partir do início do halo formado até o seu final, incluindo as bordas do disco de papel. Para cada solução e suas respectivas diluições, em relação a cada bebê, o valor dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano foi dado pela média das três culturas em ágar BHI. As diferenças entre os diferentes tratamentos e controles foram analisadas estatisticamente pela análise de variância e teste de Tukey.

RESULTADOS

Observou-se que não houve inibição do crescimento microbiano quando os discos de papel foram impregnados com solução salina (controle), solução de bicarbonato de sódio e solução obtida da infusão de *Matricaria chamomilla*, independente da concentração e da origem do inóculo (saliva não-estimulada ou placa dental dos bebês). Portanto, das soluções testadas, apenas a solução de H₂O₂ a 3% e a de NaF a 0,02% apresentaram ação antimicrobiana significativa (p<0,01) sobre

a microbiota avaliada (Tabelas 1 e 2), sendo que a solução de H₂O₂ a 3% apresentou uma ação superior à de NaF a 0,02% (p<0,01), independente da origem do inóculo (Gráficos 1 e 2).

Constatou-se que as diluições 1/32 a 1/128 da solução de H₂O₂ a 3% e 1/4 a 1/128 da solução de NaF a 0,02% não exibiram efeito antimicrobiano sobre quaisquer dos inóculos utilizados.

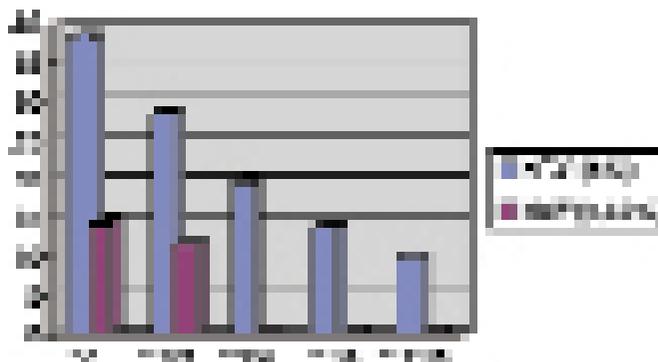
Não houve diferença estatisticamente significativa (p>0,05) quando foram comparados os resultados obtidos com os diferentes inóculos, para todas as soluções testadas.

TABELA 1: Médias e desvios padrões dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano, medidos (mm) após a colocação de discos de papel impregnados com a solução de H₂O₂ a 3% nas placas de Petri contendo ágar BHI, inoculadas com saliva não-estimulada e placa dental de bebês.

Solução testada	Origem do inóculo	
	SALIVA	PLACA
H ₂ O ₂ a 3% Concentrada	38,30±1,50	38,10±1,21
1/2	48,15±1,59	48,50±1,89
1/4	19,40±1,05	19,35±1,81
1/8	13,62±1,10	13,50±1,47
1/16	9,45±1,10	9,25±1,45
1/32	0	0
1/64	0	0
1/128	0	0

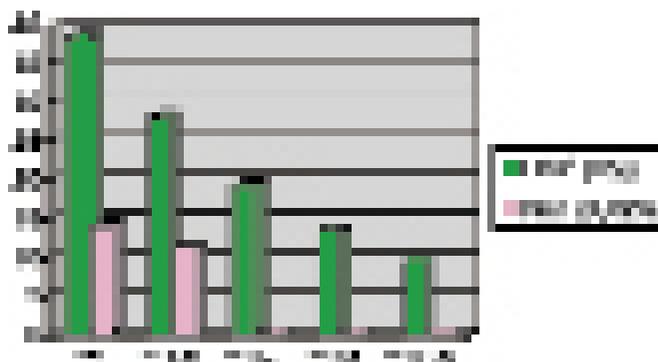
TABELA 2: Médias e desvios padrões dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano, medidos (mm) após a colocação de discos de papel impregnados com a solução de NaF a 0,02% nas placas de Petri contendo ágar BHI, inoculadas com saliva não-estimulada e placa dental de bebês.

Solução testada	Origem do inóculo	
	SALIVA	PLACA
NaF a 0,02% Concentrada	14,40±2,01	14,25±1,97
1/2	11,23±1,81	11,10±1,86
1/4	0	0
1/8	0	0
1/16	0	0
1/32	0	0
1/64	0	0
1/128	0	0



* solução original concentrada
** diluição da solução original concentrada

GRÁFICO 1: Diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano, medidos (mm) após a colocação de discos de papel nas placas de Petri contendo ágar BHI, inoculadas com saliva não-estimulada de bebês.



* solução original concentrada
** diluição da solução original concentrada

GRÁFICO 2: Diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano, medidos (mm) após a colocação de discos de papel nas placas de Petri contendo ágar BHI, inoculadas com placa dental de bebês.

DISCUSSÃO

Na ausência da higiene bucal ocorre o acúmulo do biofilme, o que leva as populações microbianas ao desequilíbrio, com a conseqüente predominância daquelas que não estão associadas à saúde. Portanto, o controle do biofilme dentário consiste no elemento essencial para a manutenção da saúde bucal (DEAN & HUGHES, 1995). Com isso, surge a freqüente indagação dos pais: devemos limpar a boca do nosso filho com qual solução? As indicações são inúmeras, porém a literatura é escassa sobre qual seria a solução mais indicada para a limpeza da cavidade bucal de bebês.

É necessário tomar precauções antes da introdução de uma solução na cavidade bucal de bebês. Deve-se levar em consideração, fundamentalmente, se o princípio ativo quebrará o equilíbrio microbiano da boca, se esse tal agente ideal será escolhido baseando-se no objetivo da diminuição ou da eliminação de microorganismos especificamente relacionados com a doença ou de um amplo espectro de microor-

ganismos, ou, ainda, se o produto a ser usado deverá preservar o estado de ausência de doença, enquanto põe em risco o desenvolvimento de resistência. Por isso, conhecer as propriedades de cada solução e os seus possíveis efeitos colaterais é condição *sine qua non* na sua indicação. O conhecimento da sua ação torna possível dispor destes produtos para comprovar o benefício à saúde bucal, mediado através do efeito antimicrobiano, e que os profissionais venham a explorar futuramente essa propriedade como um método terapêutico, coadjuvante no tratamento das doenças periodontais e da cárie.

Nos resultados obtidos no presente trabalho, verificou-se que não houve inibição do crescimento microbiano quando os discos de papel foram impregnados com solução salina (controle), solução de bicarbonato de sódio e solução obtida da infusão de *Matricaria chamomilla*. Entretanto, a solução de H_2O_2 a 3% e a de NaF a 0,02% apresentaram ação antimicrobiana significativa, sendo que a solução de H_2O_2 a 3% apresentou uma ação significativamente superior à de NaF a 0,02%. Portanto, um dado interessante para discussão seria esse efeito produzido pela solução de H_2O_2 .

Na literatura, o bochecho com a solução de H_2O_2 tem sido proposto há muitos anos como útil para o controle de várias condições orais. Os proponentes do uso da solução de H_2O_2 baseiam a recomendação na sua atividade como agente antimicrobiano tópico e na sua ação mecânica de limpeza. Ele é um desinfetante oxidativo instável e a sua ação antimicrobiana é mediada pela formação do radical livre hidroxila (OH \cdot). Quando é aplicado nos tecidos orais, as enzimas protetoras das células, como a peroxidase e a catalase, atuam sobre o material, inativando rapidamente o H_2O_2 e produzindo oxigênio e água, o que provoca uma rápida decomposição, com uma resultante e característica reação de efervescência. Este ambiente de oxigênio aumentado é altamente desfavorável ao crescimento de bactérias anaeróbias, podendo, então, ocorrer um ataque aos lipídios da membrana, ao DNA e a outros componentes celulares essenciais (MARTIN *et al.*, 1968; REES & ORTH, 1986; TOMBES & GALLUCI, 1993).

Porém, o uso da solução de H_2O_2 não apresenta aceitação universal. Não foram estabelecidas bases clínicas nem científicas para seu uso seguro como agente para o cuidado bucal. As controvérsias existem por diversas razões: seu sabor desagradável e sua ação efervescente, a qual facilita a limpeza mecânica, são freqüentemente inaceitáveis pelos pacientes, inibindo também a granulação tecidual da mucosa nos indivíduos com lesões orais (TOMBES & GALLUCI, 1993). Além disso, paradoxalmente, a solução de H_2O_2 é também tóxica para o hospedeiro, podendo causar peroxidação dos

lipídios nas membranas celulares, eliminar células humanas e destruir o epitélio da cavidade bucal (WEITZMAN, 1984; ADAIR, 1996).

De acordo com Rees & Orth (1986), uma iritação tecidual leve pode ocorrer quando a solução de H_2O_2 é usada, mesmo por curtos períodos de tempo, sendo o dano, entretanto, mais severo com o uso crônico. Além disso, esse uso crônico tem sido indicado como capaz de desmineralizar os dentes e alterar a microbiota oral normal, levando à hipertrofia das papilas da língua – língua negra pilosa – ou à infecção crônica oral pelo crescimento exacerbado de microorganismos oportunistas na cavidade bucal, como vírus, bactérias, fungos (em bebês, especialmente, *Candida albicans*) e parasitas (REES & ORTH, 1986; TOMBES & GALLUCI, 1993).

Tombes & Galluci (1993) afirmam que estudos anteriores ao deles com voluntários normais demonstraram que os bochechos com a solução de H_2O_2 podem apresentar propriedades antibacterianas, mas que estão associadas com irritação e secura da mucosa, perda de paladar, alongamento das papilas filiformes da língua, embranquecimento difuso das superfícies das mucosas e desconforto na boca. Segundo os autores, estes estudos apresentaram limitações, pelo pequeno tamanho da amostra ou pela investigação de muitas diluições e misturas, o que tornou difícil delinear as conclusões sobre os efeitos de diluições específicas da solução de H_2O_2 na mucosa oral normal. Entretanto, no seu estudo, Tombes & Galluci (1993) também verificaram esses achados.

A partir dos resultados encontrados no presente estudo e dos motivos expostos anteriormente, não se indica o uso da solução de H_2O_2 para a limpeza da cavidade bucal do bebê, evitando, assim, condições de desequilíbrio e posterior aparecimento de processos infecciosos agudos ou crônicos. Dessa forma, haverá a possibilidade de a microbiota estabelecer-se num sítio e permanecer estável ao longo do tempo, apesar das pequenas perturbações que ocorrem naturalmente no meio ambiente.

No presente trabalho também se verificou que a solução de NaF a 0,02% (90ppm) apresentou efeito antimicrobiano, porém não tão acentuadamente quanto a solução de H_2O_2 . O fluoreto é conhecido por interferir na adesão inicial e na agregação bacteriana, bem como na produção de polissacarídeos extracelulares. Talvez por isso reduza o volume do biofilme dentário. Ainda afeta os níveis intracelulares de ATP e o metabolismo bacteriano, e, em baixas concentrações, inibe a produção de ácido pela bactéria e pelo biofilme quando o pH cai, durante o metabolismo (MIRANDA & PIZZOLITTO, 1980; MALTZ & EMILSON, 1982; VAN LOVEREN,

1990; EISENBERG *et al.*, 1991).

Os resultados de recentes estudos mostraram que o fluoreto pode afetar o metabolismo bacteriano através de diferentes mecanismos; pode atuar diretamente como um inibidor enzimático, por exemplo, da enzima glicolítica enolase; pode inibir peroxidases ou formar complexos com metais que culminam com uma inibição enzimática. Dessa forma, o fluoreto pode reduzir o transporte de açúcar, a atividade glicolítica e a tolerância ácida de muitas bactérias (MARQUIS, 1995).

A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa, sugere-se o uso do fluoreto racionalmente, para que não venha a causar desequilíbrio na microbiota em instalação. Indica-se o fluoreto para bebês portadores de risco identificado à doença cárie ou para aqueles nos quais a atividade de cárie esteja presente, havendo um desequilíbrio nos mecanismos homeostáticos da cavidade bucal, e em que a ação do fluoreto seja importante para agir dinamicamente nos mecanismos de desmineralização. Porém, quando se trabalha com crianças de baixa idade, é fundamental que se tenha presente o binômio risco/benefício, que inclui a necessidade individual do paciente (risco ou atividade de cárie), a frequência, o método fluoretado a ser utilizado e os riscos de toxicidade aguda ou crônica a que a criança possa ser exposta (VILLENNA & CURY, 1998).

Futuros estudos ainda se fazem necessários para que seja determinada a concentração adequada de fluoreto que satisfaça o binômio risco/benefício, tanto para o esmalte dental como para a microbiota de bebês. Nessas condições, poderíamos considerar o uso do fluoreto como uma "terapia inteligente" (SLAVKIN, 1997), que serviria para inibir ou eliminar microorganismos quando as condições ambientais estivessem indesejáveis, além de reduzir a desmineralização e favorecer a remineralização do esmalte dental. Vale destacar ainda que o uso do fluoreto como medida preventiva deve estar associado a um processo educativo e de necessidade individual, com a finalidade de que a criança e o futuro adulto tenham a conscientização de se autocuidar e de utilizar o fluoreto de maneira racional (VILLENNA &

microbial effect, regardless of the concentration. However, the solution of 3% H₂O₂ and the solution of 0,02% NaF showed a significant effect ($p < 0,01$), while the 3% H₂O₂ had a better effect ($p < 0,01$) than the 0,02% NaF, regardless to the inoculum used.

KEYWORDS: Child; Anti-infective agents, local; Oral hygiene.

CURY, 1998).

Para os bebês que não apresentam risco identificado à doença cárie, indica-se o uso da solução salina ou da água filtrada, da solução de bicarbonato de sódio ou da obtida da infusão de *Matricaria chamomilla*, que, de acordo com os resultados do presente estudo, não apresentaram efeito antimicrobiano. Sugere-se, portanto, o uso de uma dessas soluções como uma possível estratégia para manter a estabilidade e as propriedades benéficas da microbiota oral natural. Adicionalmente, é importante ressaltar que estudos *in vivo* e *in situ* para testar essas soluções são extremamente recomendados para que se obtenham resultados mais precisos sobre a dinâmica destas soluções na cavidade bucal de bebês.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Não houve atividade antimicrobiana da solução de bicarbonato de sódio e da solução obtida da infusão de *Matricaria chamomilla*.
- A solução de H₂O₂ a 3% apresentou ação antimicrobiana significativa ($p < 0,01$) sobre a microbiota avaliada até a diluição 1/16.
- A solução de NaF a 0,02% apresentou ação antimicrobiana significativa ($p < 0,01$) sobre a microbiota avaliada até a diluição 1/2.
- A solução de H₂O₂ a 3% apresentou ação antimicrobiana significativamente maior ($p < 0,01$) do que a solução de NaF a 0,02%.

MODESTO, A.; LIMA, K.C.; UZEDA, M. Determination of the Antimicrobial Activity of Solutions Used in Infant Oral Hygiene. *J Bras Odontopediatr Odontol Bebê*, Curitiba, v.6, n.29, p.18-23, jan./fev. 2003.

The purpose of this study was to evaluate and compare the antimicrobial effect of solutions commonly used in infant oral hygiene. After collecting a pool of unstimulated saliva and dental plaque from 20 infants, a diffusion test in agar was run. The results were analysed by Anova and Tukey test. Results showed that the sodium bicarbonate solution (control) and the one obtained from the infusion of *Matricaria chamomilla* did not show any anti-

microbial effect, regardless of the concentration. However, the solution of 3% H₂O₂ and the solution of 0,02% NaF showed a significant effect ($p < 0,01$), while the 3% H₂O₂ had a better effect ($p < 0,01$) than the 0,02% NaF, regardless to the inoculum used.

AGRADECIMENTO

Ao estatístico Ronir Luiz pelas orientações e auxílio na análise estatística da presente pesquisa e às instituições de apoio à pesquisa e pós-graduação CAPES, CNPq, FINEP e PRONEX.

REFERÊNCIAS

ADAIR, T.M. Is peroxide a hazard? *J Am Dent Assoc*, Chicago, v.127, n.4, p.422, Apr. 1996.

- CAMARGO, M.C.F. Programa preventivo de maloclusões em bebês. In: GONÇALVES, E.A.N.; FELLER, C. **Atualização na Clínica Odontológica**. São Paulo: Artes Médicas, 1998, p.405-442.
- DEAN, J.A.; HUGHES, C.V. Métodos mecânicos e quimioterapêuticos caseiros de higiene oral. In: McDONALD, R.E.; AVERY, D.R. **Odontopediatria**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995, p.176-194.
- EISENBERG, A.D.; OLDERSHAW, M.D.; CURZON, M.E.; HANDELMAN, S.L. Effects of fluoride, lithium and strontium on growth and acid production of *mutans Streptococci* and *Actinomyces viscosus*. **Caries Res**, Basel, v.25, n.3, p.179-184, May/June 1991.
- MALTZ, M.; EMILSON, C.G. Susceptibility of oral bacteria to various fluoride salts. **J Dent Res**, Washington, v.61, n.6, p.786-790, June 1982.
- MARQUIS, R.E. Antimicrobial actions of fluoride for oral bacteria. **Can J Microbiol**, Ottawa, v.41, n.11, p.955-964, Nov. 1995.
- MARTIN, J.H.; BISHOP, J.G.; GUENTHERMAN, R.H.; DORMAN, H.L. Cellular response of gingiva to prolonged application of dilute hydrogen peroxide. **J Periodontol**, Chicago, v.39, n.4, p.208-210, July 1968.
- MARTINS, A.L.C.F.; TESSLER, A.P.C.V.; CORRÊA, M.S.N.P. Controle mecânico e químico da placa bacteriana. In: CORRÊA, M.S.N.P. **Odontopediatria na Primeira Infância**. São Paulo: Santos, 1998, p.271-278.
- MIRANDA, V.C.; PIZSOLITTO, A.C. Ação do flúor sobre estreptococos orais – concentração inibitória mínima. **Rev Assoc Paul Cir Dent**, São Paulo, v.34, n.6, p.480-485, nov./dez. 1980.
- MOSS, S.J. **Growing up Cavity Free: a parent's guide to prevention**. Chicago: Quintessence Books, 1993, 147p.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. 5.ed. 17: 8. Approved Standard M7A4. Villanova, PA, 1997.
- NOWAK, A.J.; CASAMASSIMO, P.S. Using anticipatory guidance to provide early dental intervention. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.126, n.8, p.1156-1163, Aug. 1995.
- REES, T.D.; ORTH, C.F. Oral ulcerations with use of hydrogen peroxide. **J Periodontol**, Chicago, v.57, n.11, p.689-692, Nov. 1986.
- RIBEIRO, L.P.; MODESTO, A.; RIBEIRO, I.P.R. Conhecimentos e atitudes de alguns pediatras da cidade do Rio de Janeiro sobre aspectos de saúde oral do bebê. **J Bras Odontopediatr Odontol Bebê**, Curitiba, v.2, n.9, p.345-350, nov./dez. 1999.
- SLAVKIN, H.C. Biofilms, microbial ecology and Antoni Van Leeuwenhoek. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.128, n.4, p.492-495, Apr. 1997.
- TOMBES, M.B.; GALLUCCI, B. The effects of hydrogen peroxide rinses on the normal oral mucosa. **Nursing Res**, Philadelphia, v.42, n.6, p.332-337, Nov./Dec. 1993.
- VAN LOVEREN, C. The antimicrobial action of fluoride and its role in caries inhibition. **J Dent Res**, Washington, v.69, spec issue, p.676-681, Feb. 1990.
- Recebido para publicação em: 20/01/02
Enviado para reformulação em: 15/03/02
Aceito para publicação em: 25/04/02