

DIENI DA SILVEIRA TEIXEIRA

**EFEITO DA APLICAÇÃO TÓPICA DE CLOREXIDINA, IODOPOVIDONA E
ERITROMICINA NO REPARO DE ÚLCERAS TRAUMÁTICAS EM VENTRE
LINGUAL DE RATOS: ANÁLISE CLÍNICA, HISTOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Estomatologia Clínica.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Gonçalves Salum

Co-orientadora: Profa. Dra. Sílvia Dias de Oliveira

Porto Alegre

2017

ΕΠΪΓΡΑΦΕ

“O cientista não é o homem que fornece as verdadeiras respostas; é quem faz as verdadeiras perguntas.”

Claude Lévi-Strauss

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, agradeço a **Deus**, quem me deu o dom da vida e me capacita a cada dia para tornar meus sonhos em realidade. A Ele que coloca pessoas tão importantes na minha vida, cada uma com um propósito diferente, tornando-a ainda mais especial. Sou grata a Ele, pois sei que sem Ele nada seria possível, e que com Ele nada se torna impossível.

Agradeço aos **meus pais, Nilza e Samandau**, pelos valores e ensinamentos, mostrando-me o caminho a seguir, sempre com uma palavra de incentivo e apoio aos meus ideais. Muito Obrigada!

Ao **Alex**, pelo carinho, pelas palavras de incentivo, por me tranquilizar, me distrair e sempre acreditar que era possível, mesmo quando eu mesma pensava o contrário. Te amo!

Aos **amigos e familiares**, pelo apoio e por compreenderem minha ausência em alguns encontros, jantares e aniversários.

Aos **meus colegas da Estomatologia Clínica**, pela vivência e amizade construída ao longo desses dois anos de curso. Cada momento de alegria, tensão e disponibilidade, certamente foram essenciais para a conclusão desta etapa.

Ao **Serviço de Estomatologia**. Às **professoras Maria Antônia Z. de Figueiredo e Karen Cherubini**, por todo ensinamento e conhecimento transmitidos desde a época da faculdade. Pelo questionamento e aprendizado a cada novo paciente, sempre nos estimulando a aprender mais. São profissionais exemplares e contribuíram de forma significativa para que eu optasse pelo mestrado em Estomatologia. Também à **Márcia** por todo auxílio que nos dá durante os dias de ambulatório e por sempre estar disposta a me ouvir.

À **professora Maria Martha Campos**, que acompanhou minha trajetória desde os primeiros anos da graduação, por me conferir a minha primeira carta de apresentação e aceitar o convite para a qualificação do meu projeto. Cada auxílio, cada contribuição foram fundamentais para a conclusão desta pesquisa.

Agradeço à **equipe do CEMBE**, pelo auxílio e orientação com os animais. Por me confiarem uma cópia da chave e me permitirem acesso ao vivário mesmo em horário que não estava em funcionamento.

Agradeço àqueles que me cederam seu tempo e me auxiliaram na realização da fase experimental da minha pesquisa. Particularmente, às bolsistas de iniciação científica **Eduarda Fattori e Rafaela Aranha**, as quais se dedicaram integralmente ao experimento, sempre mostrando-se dispostas, mesmo durante as férias acadêmicas ou finais de semana.

Ao **professor Fábio Luiz Dal Moro Maito** por disponibilizar os equipamentos do Laboratório de Patologia Oral da Faculdade de Odontologia da PUCRS. À **Janaína**, pelo auxílio que me deu na confecção de todas as lâminas, dispondo-se a repeti-las quando foi necessário.

Também a **todos do Laboratório de Imunologia e Microbiologia da PUCRS**, em especial à **Maria Claudia Garcia**, por toda atenção que me deu. Tua ajuda foi imprescindível para a execução da avaliação microbiológica. Jamais esquecerei das 1728 placas de Ágar sangue que confeccionamos e semeamos.

Especialmente à **professora Sílvia Dias de Oliveira**, por aceitar o convite de ser minha co-orientadora. Obrigada por ter se dedicado à minha pesquisa, tua ajuda foi importante para a realização de todo o trabalho.

Por fim, agradeço principalmente à **professora Fernanda Gonçalves Salum** por toda paciência e orientação dada no decorrer desses dois anos, pelo

aprendizado e direcionamento na realização de toda pesquisa, conduzindo-me da melhor forma em cada etapa realizada. Obrigada pela disponibilidade e por toda atenção que deu ao meu trabalho.

RESUMO

RESUMO

A mucosa bucal é constantemente submetida a injúrias traumáticas, sendo um sítio frequente para a ocorrência de lesões ulceradas. Tais lesões são suscetíveis a processos infecciosos que podem retardar a cicatrização. Neste sentido, no primeiro artigo desta dissertação, foi realizada uma revisão da literatura com o objetivo de abordar o mecanismo de ação e o emprego de clorexidina, iodopovidona e eritromicina no processo de reparo de feridas bucais. Essas substâncias apresentam características particulares, independentemente do seu efeito antimicrobiano, que podem favorecer o restabelecimento da arquitetura tecidual. Entretanto, poucas pesquisas avaliam o efeito destes fármacos no processo cicatricial de úlceras traumáticas bucais. Assim, o segundo artigo apresenta um estudo em modelo animal, que foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da clorexidina 0,12%, iodopovidona 10% e eritromicina 0,5% no reparo de úlceras traumáticas em ventre lingual. Quarenta e oito ratos *Wistar* foram distribuídos em um grupo-controle e três grupos experimentais: clorexidina, iodopovidona e eritromicina. Uma úlcera com 5 mm de diâmetro foi confeccionada no ventre lingual de cada animal. Após 24 h, foi realizada a primeira coleta microbiológica e iniciou-se a aplicação diária das substâncias. Em seis animais de cada grupo, as aplicações foram realizadas durante três dias e, nos demais, durante sete dias. Previamente à eutanásia uma nova coleta microbiológica foi realizada. O registro fotográfico das lesões remanescentes foi obtido para avaliação clínica e, posteriormente, a língua dos animais foi ressecada para análise histológica. Na avaliação macroscópica da área das lesões os grupos iodopovidona e clorexidina apresentaram valores significativamente inferiores aos do grupo-controle após três

dias de tratamento. Embora os grupos experimentais tenham apresentado valores superiores quanto à área de tecido epitelial neoformado, não houve diferença significativa em relação ao controle. O grupo eritromicina exibiu os menores escores de inflamação aos sete dias de tratamento. A iodopovidona apresentou os melhores resultados na redução de micro-organismos em ambos os tempos experimentais, tanto em condições de aerobiose, quanto em microaerofilia. Pode-se concluir que os antimicrobianos utilizados neste estudo, favorecem o processo cicatricial e podem prevenir a ocorrência de infecções. Dentre as substâncias testadas, a iodopovidona 10% apresentou os melhores resultados clínicos, histológicos e microbiológicos.

Palavras-chave: Clorexidina. Povidona-Iodo. Eritromicina. Cicatrização. Úlceras Orais.

ABSTRACT

ABSTRACT

Oral mucosa is continuously subjected to traumatic injuries, being a common site for the occurrence of ulcerated lesions. These lesions are susceptible to infections that may delay healing. In the first article of this dissertation, a review of the literature was performed with the aim of understanding the mechanism of action and use of chlorhexidine, povidone-iodine and erythromycin in the healing process of oral wounds. These substances have particular characteristics, independent of their antimicrobial effect, which could favor the reestablishment of tissue architecture. However, few studies evaluated the effect of these drugs on the healing process of oral ulcers. Thus, the second article presents a study in animal model, which was carried out with the aim of to assessing the effect of 0.12% chlorhexidine, 10% povidone-iodine and 0.5% erythromycin in the repair of traumatic ulcers on ventral tongue. Forty-eight *Wistar* rats were divided into four groups: control, chlorhexidine, povidone-iodine and erythromycin. A 5-mm-diameter excisional wound was made in the center of ventral tongue. After 24 h, a microbiological sample was taken and daily application of the substances started. In six animals from each group, the applications were carried out for three days and in the others for seven days. Prior to euthanasia a new microbiological collection was performed. The photographic record of the residual lesions was obtained for clinical evaluation and, subsequently, the tongue was resected for histological analysis. In the clinical evaluation of the lesion area, the povidone-iodine and chlorhexidine groups presented significantly lower values compared to the control group after three days of treatment. Although the experimental groups presented higher values in the histomorphometric analysis of the epithelial tissue, there was no significant difference in relation to the control. The

erythromycin group exhibited the lowest inflammation scores at seven days of treatment. Povidone-iodine showed the best results in the reduction of microorganisms in both experimental times and aerobic and microaerophilic conditions. Based on the results it is possible to conclude that the antimicrobials used in the present study favor the repair process of the oral wounds and may prevent the occurrence of infections. Among the substances tested, 10% povidone-iodine showed the best clinical, histological and microbiological results.

Keywords: Chlorhexidine. Povidone-Iodine. Erythromycin. Wound Healing. Oral Ulcer.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

TOPICAL CHLORHEXIDINE, POVIDONE-IODINE AND ERYTHROMYCIN IN THE REPAIR OF TRAUMATIC ULCERS ON TONGUE OF RATS: CLINICAL, HISTOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION

- Figure 1. Flowchart representing the stages of the study..... 62
- Figure 2. Digital and histological images of ventral tongue ulcers of rats at seven days of treatment. Only PvIG (A-a) displayed complete wound closure (X50). Chx (B-b) and Control group (C-c) showing incomplete wound healing (X50)..... 66
- Figure 3. Histological examination of inflammatory infiltrate, X400. Control group (A), showing intense polymorphonuclear infiltrate and disorganized connective tissue and ChxG (B), displaying moderate inflammation, at 3 days of treatment. ErG (C), showing sparse mononuclear cells and PvIG (D), displaying greater vascularization, at 7 days..... 69
- Figure 4. Mean and standard error of inflammatory infiltrate. *Significant difference ($p \leq 0.05$) at 7 days with PvIG. Kruskal-Wallis test and Student-Newman-Keuls *post hoc* test..... 69

Figure 5. Comparison of the effects of chlorhexidine, povidone-iodine and erythromycin on the bacteria cultured under microaerophilic (A and B) or aerobic (C and D) conditions at 3 and 7 days. Bacterial growth is represented as CFU counts (mean and standard error), showing $p < 0.05$ (*) for PvlG (A, B) and ErG (C), $p < 0.01$ (**) for PvlG (C) and ErG (D) and $p < 0.001$ (***) for PvlG in post-treatment (D) (two-way ANOVA and post hoc Bonferroni test) compared to control Group. Significant difference between pre- and post-treatment $p < 0.05$ (#) in the control Group (A and C), ChxG, PvlG and ErG (B and D) (Wilcoxon test)..... 71

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

THE EFFECT OF CHLORHEXIDINE, POVIDONE-IODINE AND ERYTHROMYCIN IN THE REPAIR OF ORAL WOUNDS: A REVIEW

Table 1.	Pre-clinical studies involving topical application of chlorhexidine on oral wounds.....	38
Table 2.	Controlled clinical studies involving topical application of Povidone-iodine (PVI) for prevention or treatment of oral mucositis (OM).....	41

TOPICAL CHLORHEXIDINE, POVIDONE-IODINE AND ERYTHROMYCIN IN THE REPAIR OF TRAUMATIC ULCERS ON TONGUE OF RATS: CLINICAL, HISTOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION

Table 1.	Ulcer area (mm ²) at three and seven days of treatment with chlorhexidine, povidone-iodine and erythromycin (median, 25-75 percentile).....	67
Table 2.	Area of epithelial tissue (mm ²) at three and seven days of treatment with chlorhexidine, povidone-iodine and erythromycin (median, 25-75 percentile).....	68

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

C/RT	Chemoradiotherapy
CFU	Colony forming units
Chx	Chlorhexidine
ChxG	Chlorhexidine group
CT	Chemotherapy
ErG	Erythromycin group
Gy	Gray
NF-κB	Nuclear factor kappa B
OM	Oral mucositis
PMNs	Polymorphonuclear cells
PvI	Povidone-iodine
PvIG	Povidone-iodine group
RT	Radiotherapy
TMJ	Temporomandibular joint

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	25
2	PROPOSIÇÃO.....	29
2.1	Objetivo Geral.....	29
2.2	Objetivos Específicos.....	29
3	THE EFFECT OF CHLORHEXIDINE, POVIDONE-IODINE AND ERYTHROMYCIN IN THE REPAIR OF ORAL WOUNDS: A REVIEW.....	32
	<i>ABSTRACT.....</i>	33
	<i>INTRODUCTION.....</i>	34
	<i>CHLORHEXIDINE.....</i>	36
	<i>POVIDONE-IODINE.....</i>	39
	<i>ERYTHROMYCIN.....</i>	43
	<i>FINAL CONSIDERATIONS.....</i>	45
	<i>REFERENCES.....</i>	46
4	TOPICAL CHLORHEXIDINE, POVIDONE-IODINE AND ERYTHROMYCIN IN THE REPAIR OF TRAUMATIC ULCERS ON TONGUE OF RATS: CLINICAL, HISTOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION.....	57
	<i>ABSTRACT.....</i>	58
	<i>INTRODUCTION.....</i>	59
	<i>MATERIALS AND METHODS.....</i>	61
	Clinical and macroscopic analysis.....	63
	Processing of specimens	63
	Histological analysis.....	63
	Microbiological analysis.....	64
	Statistical analysis.....	65
	<i>RESULTS.....</i>	66
	Clinical and macroscopic analysis	66
	Histological analysis.....	67
	<i>Histomorphometric analysis</i>	67
	<i>Inflammatory infiltrate.....</i>	68

	Microbiological analysis.....	70
	<i>DISCUSSION.....</i>	<i>72</i>
	<i>REFERENCES.....</i>	<i>77</i>
5	DISCUSSÃO COMPLEMENTAR.....	83
6	CONCLUSÕES.....	88
7	REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES.....	90
	Anexo A.....	95
	Anexo B.....	96
	Anexo C.....	97
	Anexo D.....	98

1 INTRODUÇÃO

As úlceras traumáticas representam um processo patológico frequente na cavidade bucal, podendo causar sintomatologia dolorosa e prejuízo à fonação e deglutição (Bascones-Martínez *et al.*, 2005). Diversos agentes físicos ou químicos têm sido associados ao seu surgimento tais como próteses mal adaptadas, escovação inadequada, dentes com bordos cortantes ou fraturados, utilização de produtos ou fármacos de natureza ácida ou alcalina, procedimentos cirúrgicos, dentre outros (Gonzalez-Moles; Bagan-Sebastian, 2000; Muñoz-Corcuera *et al.*, 2009).

O processo de reparo desse tipo de lesão se dá por segunda intenção e uma série de eventos biológicos ocorre em cascata a fim de contemplar os estágios de inflamação, proliferação e remodelação, culminando com a cicatrização (Enoch; Leaper, 2005; Young; McNaught, 2011). Obter um reparo adequado é de extrema importância para a homeostase local, visto que a cavidade bucal é um ambiente altamente contaminado e infecções podem retardar este processo (Mariano *et al.*, 2015). Estudos referem entre 800 a 1000 diferentes *táxons* bacterianos, dos quais diversas espécies apresentam fatores de virulência locais com potencial patogênico (Wade, 2013; Gomez; Nelson, 2016).

Cabe ressaltar que alterações na cavidade bucal tais como processos inflamatórios e as ulcerações previamente mencionadas provocam modificações no microbioma e, por consequência, o favorecimento de determinadas espécies bacterianas (Edwards; Harding, 2004). Neste sentido, torna-se altamente recomendada a identificação e remoção do agente causal das úlceras traumáticas bucais, bem como o emprego de métodos e substâncias que favoreçam a

cicatrização, com especial atenção aos antissépticos e antibióticos (Mariano *et al.*, 2015).

A clorexidina é considerada o padrão-ouro dentre os antissépticos bucais, sendo amplamente utilizada no tratamento de periodontite, em pós-operatório cirúrgico e como medicação intracanal em endodontia (Sidhwa; Itani, 2015). Além do seu efeito bactericida de amplo espectro, a clorexidina possui a capacidade de adsorção às superfícies orais, sendo liberada de modo prolongado, o que lhe confere ação bacteriostática (Bonesvoll, 1977; Khademi *et al.*, 2006). Diversos estudos têm avaliado o efeito dessa substância sobre o reparo tecidual. Os resultados favoráveis têm sido vinculados, principalmente à redução de microorganismos no local da lesão (Kozlovsky *et al.*, 2007; Hammad *et al.*, 2011; Mariano *et al.*, 2015). Entretanto, outras pesquisas apontam para um possível atraso na cicatrização (Alsadat Hashemipour *et al.*, 2013; Kovalik *et al.*, 2014), justificado, principalmente, pela citotoxicidade local da clorexidina frente a fibroblastos e queratinócitos (Giannelli *et al.* 2008; Faria *et al.*, 2009).

Outro antisséptico a ser considerado é a iodopovidona, a qual é utilizada para o tratamento de lacerações, abrasões e queimaduras na pele, como agente profilático para mucosite oral ou ainda no pré-operatório (Kramer, 1999). Possui ação sobre bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, vírus, fungos e formas esporuladas (Flynn, 2003). Diversas pesquisas têm demonstrado que a iodopovidona pode ser efetiva para prevenir a incidência e diminuir a gravidade da mucosite oral em pacientes submetidos ao tratamento quimio ou radioterápico (Rahn *et al.*, 1997; Madan *et al.*, 2008; Roopashri *et al.*, 2011), pois além de seu efeito antimicrobiano exerce ação anti-inflamatória (Kumar *et al.*, 2006), com redução de espécies reativas de oxigênio (Beukelman *et al.*, 2008). Também apresenta

citotoxicidade em estudos *in vitro*, porém os achados clínicos sustentam sua eficácia e utilização (Khan; Naqvi, 2006; Flemingson *et al.*, 2008; Woo, 2014).

A eritromicina é um antibiótico macrolídeo que atua inibindo a síntese de proteínas dependentes de RNA por uma ligação irreversível com a subunidade 50S do ribossomo de um micro-organismo suscetível, possuindo ação antimicrobiana de amplo espectro (Ertaş *et al.*, 2005). É muito utilizada em infecções que afetam pele e mucosas, principalmente a mucosa do trato respiratório. Apresenta atividade sobre o biofilme bacteriano (Tsang *et al.*, 2003), sobre células do tecido ósseo (Shahabooei *et al.*, 2015) e promove imunomodulação (Shinkai *et al.*, 2008). Contudo, há poucas pesquisas utilizando esta substância em lesões bucais (Ertaş *et al.*, 2005; Ferraz *et al.*, 2007; Shahabooei *et al.*, 2015) e não há estudos avaliando o efeito tópico da mesma em úlceras traumáticas orais.

Devido à necessidade clínica de se propor um tratamento mais efetivo a pacientes portadores de lesões ulceradas da mucosa bucal e ao limitado número de pesquisas avaliando as referidas substâncias nessas lesões, o presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito do uso tópico da clorexidina, iodopovidona e eritromicina no reparo de úlceras traumáticas em ventre lingual de ratos.

2 PROPOSIÇÃO

2 PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da aplicação tópica de clorexidina (0,12%), iodopovidona (10%) e eritromicina (0,5%) no reparo tecidual de úlceras traumáticas produzidas no ventre da língua de ratos.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma revisão da literatura, abordando o mecanismo de ação e o emprego de clorexidina, iodopovidona e eritromicina no reparo de feridas bucais.
- Avaliar macroscopicamente o efeito da aplicação tópica de clorexidina (0,12%), iodopovidona (10%) e eritromicina (0,5%) no reparo de úlceras traumáticas produzidas no ventre da língua de ratos.
- Avaliar, por meio de análise histológica, o efeito desses antimicrobianos no reparo de úlceras traumáticas produzidas no ventre da língua de ratos.
- Quantificar bactérias aeróbias e microaerófilas totais presentes em úlceras traumáticas no ventre da língua de ratos, no pré e pós-tratamento.

5 DISCUSSÃO COMPLEMENTAR

5 DISCUSSÃO COMPLEMENTAR

As lesões ulceradas na cavidade bucal representam um desafio à prática clínica diária, visto que são suscetíveis ao trauma mastigatório e apresentam risco de desenvolver processos infecciosos, principalmente de natureza polimicrobiana (Wade, 2013; Gomez; Nelson, 2016). Tais agentes patogênicos retardam o reparo tecidual por meio da produção de mediadores inflamatórios, resíduos metabólicos e toxinas, além da ativação de neutrófilos, associada a enzimas citolíticas e radicais livres (Enoch; Leaper, 2005). Assim, o emprego de substâncias antimicrobianas que promovam a antissepsia local e que favoreçam a cicatrização torna-se altamente recomendado (Kozlovsky *et al.*, 2007; Mariano *et al.*, 2015).

No primeiro artigo desta dissertação foi realizada uma revisão da literatura com a finalidade de abordar o uso da clorexidina, iodopovidona e eritromicina no reparo de feridas bucais. Constatou-se que tais substâncias apresentam efeito benéfico sobre a cicatrização, principalmente quando utilizadas nas fases iniciais do processo inflamatório (Arakeri; Brennan 2011; Mariano *et al.*, 2015). Além da redução da quantidade de micro-organismos, a iodopovidona e a eritromicina podem atenuar a inflamação local, favorecendo a proliferação celular (Khan; Naqvi, 2006; Shahabooei *et al.*, 2015). Tais evidências forneceram subsídios para realização do presente estudo, que teve por objetivo avaliar efeito da aplicação tópica de clorexidina, iodopovidona e eritromicina no reparo de úlceras bucais confeccionadas no ventre lingual de ratos, por meio de avaliação clínica, histológica e microbiológica.

Optou-se pelo modelo animal murino por este apresentar composição microbiana e mucosa bucal semelhantes à dos seres humanos (Koller *et al.* 2000). Ainda, o ventre lingual foi o sítio escolhido por apresentar mucosa não-ceratinizada, a qual é

mais vulnerável à incidência de lesões ulceradas (Bascones-Martínez *et al.*, 2005). O diâmetro de 5 mm das lesões foi baseado no estudo de Jasper *et al.* (2016), o qual empregou metodologia similar a desta pesquisa. A definição dos tempos experimentais, de três e sete dias, ocorreu em função do potencial das substâncias em atuar nas fases iniciais do processo inflamatório (Bennett *et al.*, 2001; Mariano *et al.*, 2015)

Conforme previamente apresentado e discutido no segundo artigo desta dissertação, a avaliação macroscópica das lesões aos três dias de tratamento evidenciou menor área de úlcera residual nos grupos clorexidina e iodopovidona, sugerindo que uma reduzida contagem de micro-organismos, favorece a migração celular e a proliferação de fibras colágenas (Edwards; Harding, 2004). Os melhores resultados clínicos foram alcançados no grupo iodopovidona e podem estar principalmente vinculados à inibição da formação de radicais livres, resultando em estímulo à angiogênese e cicatrização mais rápida (Beukelman *et al.*, 2008). Entretanto, aos sete dias não houve diferenças significativas entre os grupos, fato que pode estar relacionado ao caráter extremamente controlado do estudo, visto que mesmo no grupo controle não houve o estabelecimento de uma infecção bacteriana. Além disso, na análise histomorfométrica da área de tecido epitelial não foi evidenciada diferença significativa entre os grupos. Porém os grupos experimentais apresentaram maior área de tecido epitelial neoformado em relação ao controle, sugerindo um possível favorecimento à formação do tecido epitelial, principalmente no grupo iodopovidona.

Em relação ao infiltrado inflamatório, aos sete dias o grupo eritromicina apresentou os menores escores. Tais achados são corroborados pela literatura, principalmente no tratamento de processos inflamatórios crônicos, devido à inibição

da ativação e da mobilização de neutrófilos, à aceleração da apoptose destas células, bem como ao bloqueio da ativação de fatores de transcrição nuclear (Ren *et al.*, 2004; Shinkai *et al.*, 2008). Outro resultado observado foi o aumento da vascularização quando a iodopovidona foi empregada, o qual foi também descrito em outras pesquisas (Bennett *et al.*, 2001; Beukelman *et al.*, 2008)

Neste estudo foi evidenciado que a iodopovidona apresentou o maior efeito bactericida, tanto no cultivo sob a condição de aerobiose, como na condição de microaerofilia. Isto se deve ao fato desta substância ser um antimicrobiano de amplo espectro, eficaz inclusive para formas esporuladas e vírus (Campbell; Campbell, 2013). A eritromicina por sua vez, apresentou diferenças significativas em relação à quantificação microbiana em aerobiose, em ambos os tempos experimentais, quando comparada ao grupo controle. Entretanto em microaerofilia tal diferença não foi observada. Dentre os fármacos testados, a clorexidina exibiu o menor efeito bactericida em relação à substância placebo. É importante destacar que em nível clínico, os bochechos com clorexidina permitem uma maior superfície para a adsorção do fármaco, potencializando seu efeito bacteriostático. Além disso, no presente estudo em nenhum momento houve o estabelecimento de uma infecção microbiana, somente contaminação das lesões ulceradas.

A manutenção da ferida com um menor número de micro-organismos pela utilização de iodopovidona, eritromicina e clorexidina, mostrou-se benéfica ao processo de reparo. Dentre as substâncias testadas, a iodopovidona 10% apresentou os melhores resultados clínicos, histológicos e microbiológicos, podendo ser aplicada na cavidade oral. Entretanto, seu uso deve ser restrito a lesões localizadas, devido à pigmentação dentária. Ainda, devido aos diferentes mecanismos de ação dos fármacos testados, pode-se considerar a possibilidade de

associação dos mesmos como uma alternativa no caso de lesões múltiplas ou crônicas que não respondam as terapias convencionais.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados deste estudo pode-se concluir que, em úlceras traumáticas produzidas na mucosa bucal de ratos:

- A iodopovidona e a clorexidina mostram-se efetivas no processo de reparo, principalmente nos primeiros dias após a instalação das lesões. Tal resultado indica o uso destes fármacos desde as fases iniciais do processo de reparo.
- A eritromicina atenua o processo inflamatório, evidenciando sua ação imunoregulatória, principalmente quando utilizada em um período de sete dias. Tal substância se apresenta como uma alternativa em processos crônicos.
- A iodopovidona, clorexidina e eritromicina promovem redução dos microorganismos no local da lesão, o que pode exercer efeito direto sobre o processo de reparo tecidual.
- Dentre os fármacos testados, a iodopovidona apresenta os melhores resultados clínicos, histológicos e microbiológicos.

7 REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES

7 REFERÊNCIAS COMPLEMENTARES

1. Alsadat Hashemipour M, Borna R, Gandjaliphan Nassab A. Effects of mucoadhesive paste of chlorhexidine and betamethasone on oral ulcer recovery process in rats. *Wounds* 2013; 25(4):104-12.
2. Arakeri G, Brennan PA. Povidone-iodine: an anti-oedematous agent? *Int J Oral Maxillofac Sur* 2011; 40(2):173-6
3. Bascones-Martínez A, Figuera-Ruiz E, Esparza-Gómez GC. [Oral ulcers]. *Med Clin (Barc)* 2005; 125(15):590-7.
4. Bennett LL, Rosenblum RS, Perlov C, Davidson JM, Barton RM, Nanney LB. An in vivo comparison of topical agents on wound repair. *Plast Reconstr Surg* 2001; 108(3):675-87.
5. Beukelman CJ, Van den Berg AJ, Hoekstra MJ, Uhl R, Reimer K, Mueller S. Anti-inflammatory properties of a liposomal hydrogel with povidone-iodine (Repithel) for wound healing in vitro. *Burns* 2008; 34(6):845-55.
6. Bonesvoll P. Oral pharmacology of chlorhexidine. *J Clin Periodontol* 1977; 4(5):49-65.
7. Campbell N, Campbell D. Evaluation of a non-adherent, povidone-iodine dressing in a case series of chronic wounds. *J Wound Care* 2013; 22(8):401-2, 404-6.
8. Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17(2):91-6.
9. Enoch S, Leaper DJ. Basic science of wound healing. *Surgery (Oxford)* 2005; 23(2):37-42.

10. Ertaş U, Tozoglu S, Sahin O, Seven B, Gundogdu C, Aktan B *et al.* Evaluation of the anti-inflammatory effect of erythromycin on aseptic inflammation of temporomandibular joint in rabbit: a scintigraphic and histopathologic study. *Dent Traumatol* 2005; 21(4):213-7.
11. Faria G, Cardoso CR, Larson RE, Silva JS, Rossi MA. Chlorhexidine-induced apoptosis or necrosis in L929 fibroblasts: A role for endoplasmic reticulum stress. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 234(2):256-65.
12. Ferraz MP, Mateus AY, Sousa JC, Monteiro FJ. Nanohydroxyapatite microspheres as delivery system for antibiotics: release kinetics, antimicrobial activity, and interaction with osteoblasts. *J Biomed Mater Res A* 2007; 81(4):994-1004.
13. Flemingson, Emmadi P, Ambalavanan N, Ramakrishnan T, Vijayalakshmi R. Effect of three commercial mouth rinses on cultured human gingival fibroblast: an in vitro study. *Indian J Dent Res* 2008; 19(1):29-35.
14. Flynn J. Povidone-iodine as a topical antiseptic for treating and preventing wound infection: a literature review. *Br J Community Nurs* 2003; 8(6 Suppl):S36-42.
15. Giannelli M, Chellini F, Margheri M, Tonelli P, Tani A. Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: a molecular and ultrastructural investigation. *Toxicol In Vitro*. 2008; 22(2):308-17.
16. Gomez A, Nelson KE. The oral microbiome of children: development, disease, and implications beyond oral health. *Microb Ecol* 2016. Sep 14. [Epub ahead of print].
17. Gonzalez-Moles MA, Bagan-Sebastian JV. Alendronate-related oral mucosa ulcerations. *J Oral Pathol Med* 2000; 29(10):514-8.

18. Hammad HM, Hammad MM, Abdelhadi IN, Khalifeh MS. Effects of topically applied agents on intra-oral wound healing in a rat model: a clinical and histomorphometric study. *Int J Dent Hyg* 2011: 9(1):9-16.
19. Jasper J, Roithmann S, Camilotti RS, Salum FG, Cherubini K, Zancanaro de Figueiredo MA. Effect of G-CSF on oral mucositis and traumatic ulcers produced in the tongue of rats undergoing radiotherapy: clinical and histologic evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2016: 122(5):587-596
20. Khademi AA, Mohammadi Z, Havaee A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. *Aust Endod J* 2006: 32(3):112-5.
21. Khan MN, Naqvi AH. Antiseptics, iodine, povidone iodine and traumatic wound cleansing. *J Tissue Viability* 2006: 16(4):6-10.
22. Koller MM, Maeda N, Scarpace PJ, Humphreys-Beher MG. Desipramine changes salivary gland function, oral microbiota, and oral health in rats. *Eur J Pharmacol* 2000 Nov 10;408(1):91-8.
23. Kovalik AC, Bisetto P, Pochapski MT, Campagnoli EB, Pilatti GL, Santos FA. Effects of an orabase formulation with ethanolic extract of *Malva sylvestris* L. in oral wound healing in rats. *J Med Food* 2014: 17(5):618-24.
24. Kozlovsky A, Artzi Z, Hirshberg A, Israeli-Tobias C, Reich L. Effect of local antimicrobial agents on excisional palatal wound healing: a clinical and histomorphometric study in rats. *J Clin Periodontol* 2007: 34(2):164-71.
25. Kramer SA. Effect of povidone-iodine on wound healing: a review. *J Vasc Nurs* 1999: 17(1):17-23.
26. Kumar BP, Maddi A, Ramesh KV, Baliga MJ, Rao SN, Meenakshi. Is povidone-iodine a hemostyptic? A clinical study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2006: 35(8):765-6.

27. Madan PD, Sequeira PS, Shenoy K, Shetty J. The effect of three mouthwashes on radiation-induced oral mucositis in patients with head and neck malignancies: a randomized control trial. *J Cancer Res Ther.* 2008; 4(1):3-8.
28. Mariano RC, Oliveira MR, Silva LC, Ferreira S, Garcia Júnior IR, de Carvalho Silva A. Effect of topical application of chlorhexidine and metronidazole on the tissue repair of palatal wounds of rats: a clinical and histomorphometric study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2015; 119(5):505-13.
29. Muñoz-Corcuera M, Esparza-Gómez G, González-Moles MA, Bascones-Martínez A. Oral ulcers: clinical aspects. A tool for dermatologists. Part I. Acute ulcers. *Clin Exp Dermatol* 2009; 34(3):289-94.
31. Rahn R, Adamietz IA, Boettcher HD, Schaefer V, Reimer K, Fleischer W. Povidone-iodine to prevent mucositis in patients during antineoplastic radiochemotherapy. *Dermatology* 1997; 195 Suppl 2:57-61.
32. Ren W, Li XH, Chen BD, Wooley PH. Erythromycin inhibits wear debris-induced osteoclastogenesis by modulation of murine macrophage NF-kappaB activity. *J Orthop Res* 2004; 22(1):21-9.
33. Roopashri G, Jayanthi K, Guruprasad R. Efficacy of benzydamine hydrochloride, chlorhexidine, and povidone iodine in the treatment of oral mucositis among patients undergoing radiotherapy in head and neck malignancies: A drug trail. *Contemp Clin Dent* 2011; 2(1):8-12.
34. Shahabooui M, Razavi SM, Minaiyan M, Birang R, Behfarnia P, Yaghini J, et al. A histomorphometric study of the effect of doxycycline and erythromycin on bone formation in dental alveolar socket of rat. *Adv Biomed Res* 2015; 4:71

35. Shinkai M, Henke MO, Rubin BK. Macrolide antibiotics as immunomodulatory medications: proposed mechanisms of action. *Pharmacol Ther* 2008; 117(3):393-405
36. Sidhwa F, Itani KM. Skin preparation before surgery: options and evidence. *Surg Infect (Larchmt)* 2015; 16(1):14-23.
37. Tsang KW, Ng P, Ho PL, Chan S, Tipoe G, Leung R *et al.* Effects of erythromycin on *Pseudomonas aeruginosa* adherence to collagen and morphology in vitro. *Eur Respir J* 2003; 21(3):401-6.
38. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res* 2013; 69(1):137-43.
39. Woo KY. Management of non-healable or maintenance wounds with topical povidone iodine. *Int Wound J* 2014; 11(6):622-6.
40. Young A, McNaught, C. The physiology of wound healing. *Surgery (Oxford)* 2011; 29(10):475-479.

ANEXO A

APROVAÇÃO DA COMISSÃO CIENTÍFICA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA PUCRS



SIPESQ
Sistema de Pesquisas da PUCRS



Código SIPESQ: 6895

Porto Alegre, 3 de novembro de 2015.

Prezado(a) Pesquisador(a),

A Comissão Científica da FACULDADE DE ODONTOLOGIA da PUCRS apreciou e aprovou o Projeto de Pesquisa "EFEITO DA APLICAÇÃO TÓPICA DE CLOREXIDINA, IODOPOVIDONA E ERITROMICINA NO REPARO DE ÚLCERAS TRAUMÁTICAS EM VENTRE LINGUAL DE RATOS: ANÁLISE CLÍNICA, HISTOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA" coordenado por FERNANDA GONCALVES SALUM. Caso este projeto necessite apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e/ou da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), toda a documentação anexa deve ser idêntica à documentação enviada ao CEP/CEUA, juntamente com o Documento Unificado gerado pelo SIPESQ.

Atenciosamente,

Comissão Científica da FACULDADE DE ODONTOLOGIA

ANEXO B

APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA PUCRS



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, INOVAÇÃO E DESENVOLVIMENTO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Ofício 94/2015 - CEUA

Porto Alegre, 19 de novembro de 2015.

Prezado Sr(a). Pesquisador(a),


A Comissão de Ética no Uso de Animais da PUCRS apreciou e aprovou seu Protocolo de Pesquisa, registro CEUA 15/00481 intitulado "**Efeito da aplicação tópica de clorexidina, iodopovidona e eritromicina no reparo de úlceras traumáticas em ventre lingual de ratos: análise clínica, histológica e microbiológica**".

Sua investigação, respeitando com detalhe as descrições contidas no projeto e formulários avaliados pela CEUA, está **autorizada** a partir da presente data.

Informamos que é necessário o encaminhamento de relatório final quando finalizar esta investigação. Adicionalmente, ressaltamos que conforme previsto na Lei no. 11.794, de 08 de outubro de 2008 (Lei Arouca), que regulamenta os procedimentos para o uso científico de animais, é função da CEUA zelar pelo cumprimento dos procedimentos informados, realizando inspeções periódicas nos locais de pesquisa.

Nº de Animais	Espécie	Duração do Projeto
48	Rattus norvegicus	01/2016 – 12/2016

Atenciosamente,


Prof. Dr. João Batista Blessmann Weber
Coordenador da CEUA/PUCRS

Ilma. Sra.

Profa. Dra. Fernanda Gonçalves Salum

FO

Nesta Universidade

ANEXO C

SUBMISSÃO DO ARTIGO DE REVISÃO DA LITERATURA NO PERIÓDICO ORAL HEALTH & PREVENTIVE DENTISTRY

Oral Health and Preventive Dentistry <ohpd@mar

3 de jan



para dieni.teixeira

Manuscript: OHPD-2017-4 - (4195) - THE EFFECT OF CHLORHEXIDINE, POVIDONE-IODINE AND ERYTHROMYCIN IN THE REPAIR OF ORAL WOUNDS: A REVIEW

Dear Ms Teixeira

Automatic notification:

Thank you very much for submitting the above manuscript.

The manuscript is being evaluated and we will contact you as soon as a decision has been made.

Please inform us by return of email if the version posted on the web site does not correspond with the version that was submitted.

The progress of your manuscript can be followed from the progress report accessed from your account overview.

Yours sincerely,

The Editorial Office

Website:

www.manuscriptmanager.com/ohpd

Email: deni.teixeira@acad.pucrs.br

ANEXO D

SUBMISSÃO DO ARTIGO DE PESQUISA NO PERIÓDICO INTERNATIONAL WOUND JOURNAL

28/12/2016

ScholarOne Manuscripts

International Wound Journal

Preview (IWJ-16-487)

From: rvaswani@rogers.com

To: dieni,teixeira@acad.pucrs.br

CC: dieni,teixeira@acad.pucrs.br, antonia,figueiredo@pucrs.br, karen,cherubini@pucrs.br, maria,garcia@pucrs.br, silviadias@pucrs.br, fernanda,salum@pucrs.br

Subject: International Wound Journal - Manuscript ID IWJ-16-487 [email ref: SE-6-a]

Body: 28-Dec-2016

Dear Ms. Teixeira:

Your manuscript entitled "TOPICAL CHLORHEXIDINE, POVIDONE-IODINE AND ERYTHROMYCIN IN THE REPAIR OF TRAUMATIC ULCERS ON TONGUE OF RATS: CLINICAL, HISTOLOGICAL AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION" by Teixeira, Dieni; Figueiredo, Maria Antonia; Cherubini, Karen ; Garcia, Maria Claudia; Oliveira, Silvia; Salum, Fernanda, has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in International Wound Journal.

For papers with more than one author:

Co-authors, please contact the Editorial Office as soon as possible if you disagree with being listed as a co-author for this manuscript.

Your manuscript ID is IWJ-16-487.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to Manuscript Central at <https://mc.manuscriptcentral.com/iwj> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc.manuscriptcentral.com/iwj>.

Thank you for submitting your manuscript to International Wound Journal.

Sincerely,
International Wound Journal Editorial Office

Date Sent: 28-Dec-2016