

Efeitos da antissepsia com clorexidina sobre o crescimento bacteriano em suturas com fio de algodão. Estudo microbiológico e histomorfológico em ratos

Tetuo Okamoto*

Elerson Gaetti Jardim Junior**

Flávia Mariano***

Oswaldo Magro Filho*

OKAMOTO, Tetuo et al. Efeitos da antissepsia com clorexidina sobre o crescimento bacteriano em suturas com fio de algodão. Estudo microbiológico e histomorfológico em ratos. *Salusvita*, Bauru, v. 18, n. 2, p. 53-64, 1999.

RESUMO

Neste trabalho, foi avaliada a ação da clorexidina sobre as bactérias que podem estar aderidas ao fio de algodão (multifilamentar) utilizado na sutura da mucosa gengival após a extração dental. Foram empregados 18 ratos divididos em 3 grupos com os seguintes procedimentos experimentais: No Grupo I (clorexidina), após antissepsia da mucosa gengival com clorexidina, o incisivo superior direito foi extraído e a mucosa gengival suturada com fio de algodão. Decorridas 72 horas, a mesma antissepsia foi repetida e o fio de sutura removido e encaminhado ao laboratório de microbiologia para avaliar o crescimento de bactérias aeróbicas e anaeróbicas. No Grupo II (soro fisiológico), todos os procedimentos foram semelhantes, com exceção da antissepsia que foi simulada com soro fisiológico. No Grupo III, tanto a extração quanto a remoção do fio de sutura foram realizadas sem o emprego de nenhuma substância antisséptica.

Além da análise microbiológica, a maxila direita foi removida e, após processamento laboratorial de rotina, incluídas em parafina para possibilitar a microtomia. Os cortes foram corados pelo método de Gram para tecidos e pela hematoxilina e eosina para estudo microscópico.

Os resultados indicam que: 1) o emprego da clorexidina ocasionou uma diminuição significativa da contaminação bacteriana na superfície do fio de sutura, no ato de sua remoção; 2) a antissepsia com clorexidi-

* Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada. Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP. Rua José Bonifácio, 1193 - 16015-050 - Araçatuba, SP

** Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica. Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP. Rua José Bonifácio, 1193 - 16015-050 - Araçatuba, SP

*** Ex-Bolsista de Iniciação Científica da FAPESP. Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP. Rua José Bonifácio, 1193 - 16015-050 - Araçatuba, SP

na possibilitou uma neoformação fibroblástica e capilar mais precoce no alvéolo dental quando comparado aos demais grupos.

Unitermos: antissepsia, clorexidina, sutura.

INTRODUÇÃO

Com a evolução das investigações sobre o controle da infecção hospitalar, ficou evidente o papel dos fatores endógenos e exógenos no desencadeamento deste problema (Lacerda et al., 1992), o que fez com que a antissepsia extra e intra-bucal deixasse de ser uma questão inquestionável para se tornar uma medida racional.

Os procedimentos realizados em cirurgia, periodontia, endodontia e prótese provocam estado de bacteremia transitória (Witzenberger et al., 1982) e, de acordo com o estado geral do paciente, microrganismos que normalmente habitam a cavidade bucal podem se tornar patogênicos (Randall & Brenman, 1974).

No Brasil, a função de regulamentar o uso dos produtos antissépticos é da Divisão de Saneamentos Domissanitários (DISAD) do Ministério da Saúde e, dentre as soluções antissépticas relacionadas e recomendadas na Portaria número 196/83, está a solução de clorexidina para pele e mucosa (Lacerda et al., 1992).

Na escolha do antisséptico, deve-se levar em conta alguns pré-requisitos como a ausência de absorção pela pele e mucosas, rápida redução da flora, amplo espectro de atividade microbicida ou bacteriostática. Além disso, deve ser considerado o efeito residual, segurança e eficácia das formulações finais dos produtos, acondicionamento que facilite a utilização, odor agradável e custo baixo (Lacerda et al., 1992).

A clorexidina tem sua ação desencadeada em 15 segundos e efeito residual de 6 horas, não sendo significativamente afetada pela presença de sangue e outras matérias orgânicas (Lacerda et al., 1992). Assim, parece-nos uma solução indicada para a antissepsia prévia ao ato operatório, pois reúne aspectos importantes para evitar a bacteremia transitória e as infecções pós-operatórias.

O simples ato da remoção da sutura intra-bucal pode provocar bacteremia transitória em 5% dos pacientes (King et al., 1988). É sabido que antissepsia com cetilpiridínio associado à água oxigenada reduz o número de colônias bacterianas na superfície do fio de algodão (Salomão et al., 1982).

Por outro lado, dentre as intervenções cirúrgicas na cavidade bucal, a exodontia é aquela realizada mais rotineiramente (Perri de Carvalho & Okamoto, 1987) e, o fio de algodão, o material mais empregado na sutura após estas intervenções cirúrgicas. Até o momento, não encontramos trabalhos avaliando a ação da clorexidina sobre as bactérias aderidas nestes fios multifilamentares.

OKAMOTO, Tetuo et al. Efeitos da antissepsia com clorexidina sobre o crescimento bacteriano em suturas com fio de algodão. Estudo microbiológico e histomorfológico em ratos. *Salusvita*, Bauru, v. 18, n. 2, p. 53-64, 1999.

OKAMOTO, Tetuo
et al. Efeitos da
antisepsia com
clorexidina sobre o
crescimento bacteri-
ano em suturas com
fio de algodão.
Estudo microbi-
ológico e histomor-
fológico em ratos.
Salusvita, Bauru,
v. 18, n. 2, p. 53-64,
1999.

Assim, parece-nos oportuno realizar um estudo microbiológico e histomorfológico em ratos, para avaliar o efeito da antisepsia intra-bucal sobre as bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas presentes em fios de algodão, removidos 3 dias após a exodontia.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram empregados 18 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), machos, com peso entre 160/220 gramas. Os animais foram alimentados durante o período experimental, com ração sólida* e água à vontade. Para os procedimentos experimentais, os animais foram submetidos à anestesia com tiopental**.

Os animais foram divididos em 3 grupos.

Grupo I (clorexidina) - Foi realizada a antisepsia intra-bucal com solução de clorexidina*** a 0,2%, empregando-se gaze embebida com a solução acima que foi friccionada contra a mucosa oral durante um minuto. A seguir o incisivo superior direito foi extraído com instrumental especialmente adaptado por Okamoto & Russo (1973). Realizada a extração, a mucosa gengival foi suturada com fio de algodão 4-0****. Esta sutura teve como padrão a realização de 1 nó de cirurgião e 1 nó simples e os 2 chicotes foram cortados a 0,5cm dos nós. Decorridas 72 horas do ato operatório, os animais foram sacrificados e, antes da remoção do ponto, foi realizada a antisepsia da mucosa gengival junto à sutura e adjacências de forma semelhante à descrita anteriormente. A sutura foi removida utilizando-se uma tesoura reta de ponta fina. A seguir, o fio foi transportado para o laboratório de Microbiologia e Imunologia, em solução tamponada, onde foram realizadas diluições seriadas dos espécimes. De diluições pré-estabelecidas, alíquotas de 0,1ml foram transferidas para placas, em duplicata, contendo ágar infuso de cérebro/coração (DIFCO) suplementado com 0,5% de extrato de levedura (DIFCO), que foram incubadas a 37°C, em aerobiose por 72 horas, para análise de crescimento de bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas.

No *Grupo II* (soro fisiológico), todos os procedimentos foram semelhantes aos descritos para o Grupo I, com exceção da antisepsia que foi simulada com soro fisiológico.

No *Grupo III*, tanto a extração dental, quanto a remoção do fio de sutura foram realizadas sem o emprego de antisséptico ou soro fisiológico.

Após a remoção da sutura, os animais dos três grupos tiveram a maxila direita separada da esquerda, utilizando-se uma lanceta. Um corte, com tesoura de ponta romba, tangenciando a face distal do último molar, possibilitou a obtenção da peça com o alvéolo do incisivo superior direito. As peças foram fixadas em formol 10% durante 24 horas, lavadas em água corrente e, em seguida, descalcificadas em solução de citrato de sódio e ácido fórmico, em partes iguais (Morse, 1945). Após a descalcificação, as peças foram desidratadas, clarificadas e incluídas em parafina,

* Ração Ativada Produtor - Anderson & Clayton

** Thionembutal - Abbott

*** Plak-out

**** Ethicon - Johnson & Johnson

sendo orientadas de forma a permitir cortes dos alvéolos em seu sentido longitudinal. Os cortes semi-seriados com 6 micrômetros de espessura foram corados pelo método de Gram para tecidos para análise histomicrobiológica de acordo com o método descrito por Salomão et al. (1982). Alguns cortes foram corados pela hematoxilina e eosina para estudo morfológico.

Após o tempo de incubação em aerobiose por 72 horas, foi realizada a quantificação do número de colônias bacterianas crescidas nas placas, empregando o contador de colônias.

Com base no número de colônias detectado, complementado pela análise dos cortes histológicos corados pelo método de Gram para tecidos, foi definida a forma de quantificação e magnitude da colônia bacteriana.

Nos cortes corados pela hematoxilina e eosina, foi avaliada a intensidade do processo inflamatório junto ao material de sutura. Para tanto, foi assinalado o número aproximado de células inflamatórias presentes em 5 diferentes campos, de um mesmo espécime, examinadas com aumentos de 400X.

O processo inflamatório foi considerado *discreto* quando o número de células inflamatórias foi inferior a 50, *moderado* entre 50 e 250, e *intenso* acima de 250.

RESULTADOS

a) Microbiológicos

A TABELA 1 mostra os valores da contaminação microbiana dos diferentes grupos testados. Verifica-se que uma contaminação significativamente menor foi observada no grupo em que se fez uso da solução de clorexidina antes da exodontia e da remoção do fio de sutura.

TABELA 1 - Número de microrganismos viáveis presentes em fio de sutura de algodão submetidos a diferentes tratamentos na sua remoção.

ANIMAL	CLOREXIDINA	SORO FISIOLÓGICO	CONTROLE
1	5.102	3,2.103	1,186.105
2	1,4.103	1,1.103	4,86.104
3	1,3.102	1,7.103	2,06.104
4	1,4.102	7,21.104	1,06.105
5	2,53.102	8,1.104	4,5.105
6	7,2.102	2,12.103	1,08.105

Nos cortes dos alvéolos, foi possível observar, em todos os espécimes, a presença de moderado número de microrganismos mesmo na superfície do coágulo próximo à mucosa gengival.

OKAMOTO, Tetuo et al. Efeitos da antissepsia com clorexidina sobre o crescimento bacteriano em suturas com fio de algodão. Estudo microbiológico e histomorfológico em ratos. *Salusvita*, Bauru, v. 18, n. 2, p. 53-64, 1999.

OKAMOTO, Tetuo et al. Efeitos da antisepsia com clorexidina sobre o crescimento bacteriano em suturas com fio de algodão. Estudo microbiológico e histomorfológico em ratos. *Salusvita*, Bauru, v. 18, n. 2, p. 53-64, 1999.

Não foi possível encontrar diferenças marcantes entre os 3 grupos de estudo, sendo pequena a variação de animal para animal ou entre os diferentes grupos experimentais.

Assim, a presença de cocos Gram-positivos, isolados ou em cadeia, associados intimamente a bactérias Gram-negativas fusiformes, foi verificada em todos os cortes preparados.

b) Histomorfológicos

Grupo 1 (clorexidina). Decorridos 3 dias após a exodontia, o alvéolo dental encontra-se preenchido por coágulo sanguíneo, notando-se numerosos macrófagos em seu interior.

O epitélio da mucosa gengival com solução de continuidade, mostra discreta proliferação (FIGURA 1). Adjacente, nota-se pequeno número de fibroblastos e capilares neoformados ao lado de alguns polimorfonucleares neutrófilos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos.

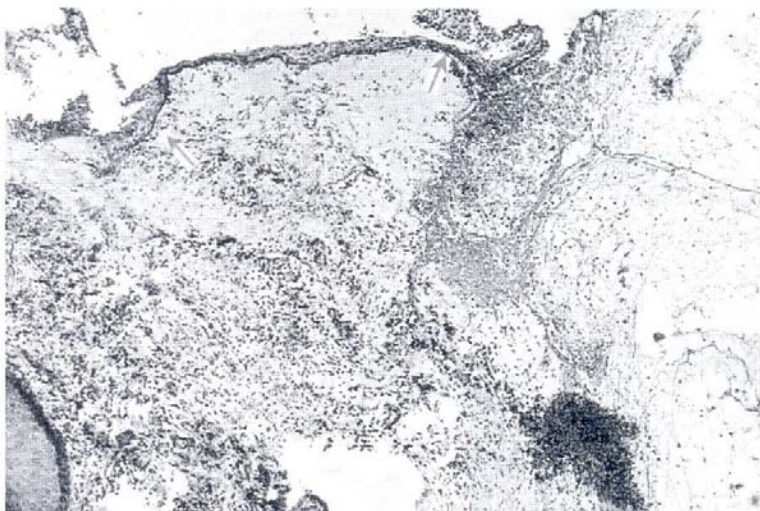


FIGURA 1 – Grupo 1 (Clorexidina). 3 dias. Epitélio da mucosa gengival com discreta proliferação (setas). HE. Original. 63x.

Ao nível do terço cervical, o remanescente do ligamento periodontal é pouco vascularizado com discreto número de fibroblastos. Alguns linfócitos e macrófagos são observados na região. Junto aos terços médio e apical, este tecido conjuntivo é bem vascularizado e rico em fibroblastos. Nas proximidades, nota-se moderada proliferação fibroblástica e capilar (FIGURA 2).

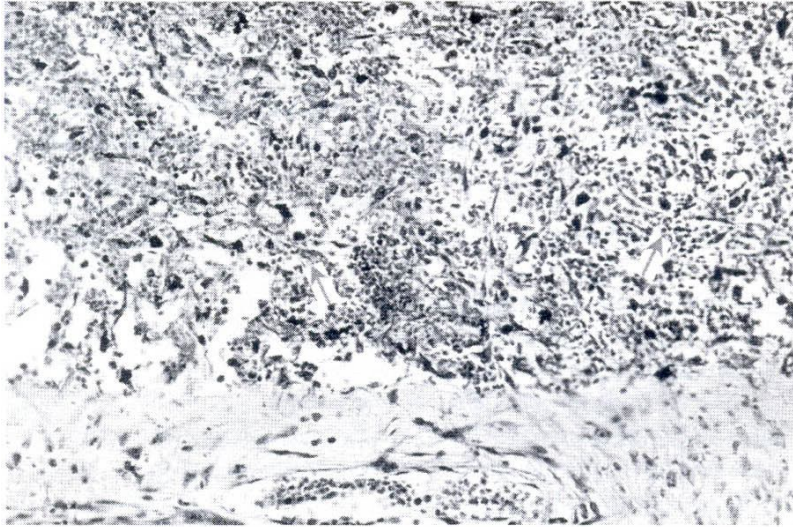


FIGURA 2 – Grupo I (Cloroxidina). 3 dias. Terço médio do alvéolo evidenciado moderada proliferação fibroblástica adjacente ao ligamento periodontal (setas). HE. Original. 160x.

Grupo II (soro). De forma semelhante ao grupo anterior, o alvéolo dental acha-se preenchido por coágulo sangüíneo com numerosos macrófagos em seu interior.

O epitélio da mucosa gengival com solução de continuidade mostra, nas proximidades, extensas áreas com elevado número de polimorfonucleares neutrófilos (FIGURA 3).

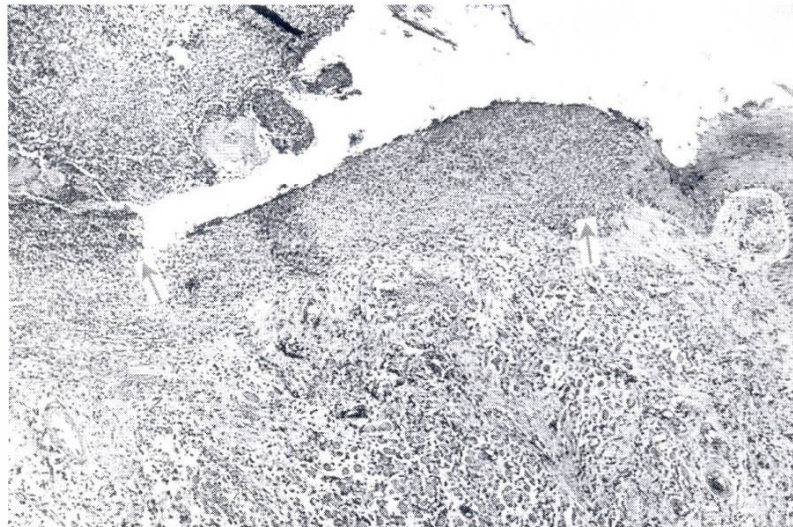


FIGURA 3 – Grupo II (Soro fisiológico) 3 dias. Próximo à mucosa gengival mostrando extensas áreas ocupadas por polimorfonucleares neutrófilos (setas). HE. Original. 63x.

OKAMOTO, Tetuo et al. Efeitos da antissepsia com clorexidina sobre o crescimento bacteriano em suturas com fio de algodão. Estudo microbiológico e histomorfológico em ratos. *Salusvita*, Bauru, v. 18, n. 2, p. 53-64, 1999.

OKAMOTO, Tetuo
et al. Efeitos da
antisepsia com
clorexidina sobre o
crescimento bacteri-
ano em suturas com
fio de algodão.
Estudo microbi-
ológico e histomor-
fológico em ratos.
Salusvita, Bauru,
v. 18, n. 2, p. 53-64,
1999.

No nível do terço cervical, permanece pequena quantidade de ligamento periodontal com poucos fibroblastos e vasos sangüíneos, notando-se moderado número de polimorfonucleares neutrófilos e macrófagos.

Junto aos terços médio este tecido conjuntivo é bem vascularizado e rico em fibroblastos.

Em alguns pontos, observa-se discreta proliferação fibroblástica junto ao ligamento periodontal (FIGURA 4).

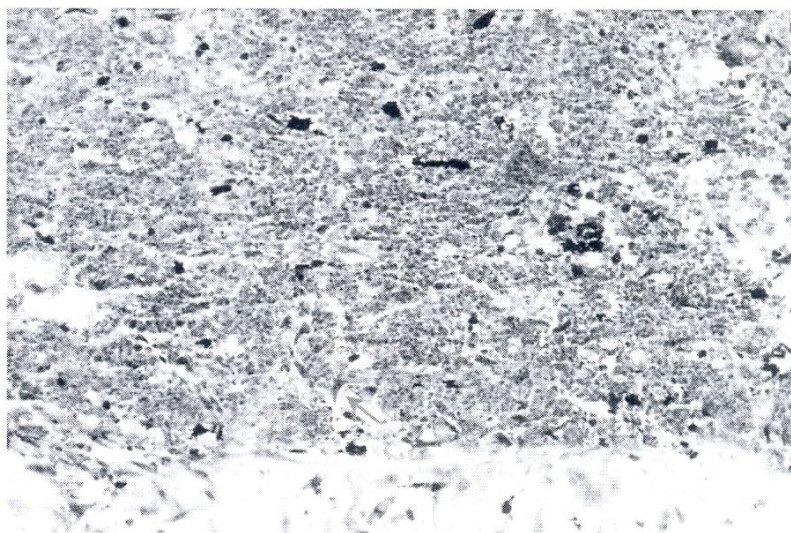


FIGURA 4 – Grupo II (Soro fisiológico), 3 dias. Terço médio junto ao ligamento periodontal evidenciando alguns fibroblastos (seta). HE. Original. 160x.

Grupo III (controle). Decorridos 3 dias após o ato cirúrgico, o alvéolo dental encontra-se parcialmente ocupado por coágulo sangüíneo com numerosos macrófagos em seu interior. Junto ao terço cervical o coágulo acha-se degenerado (FIGURA 5).

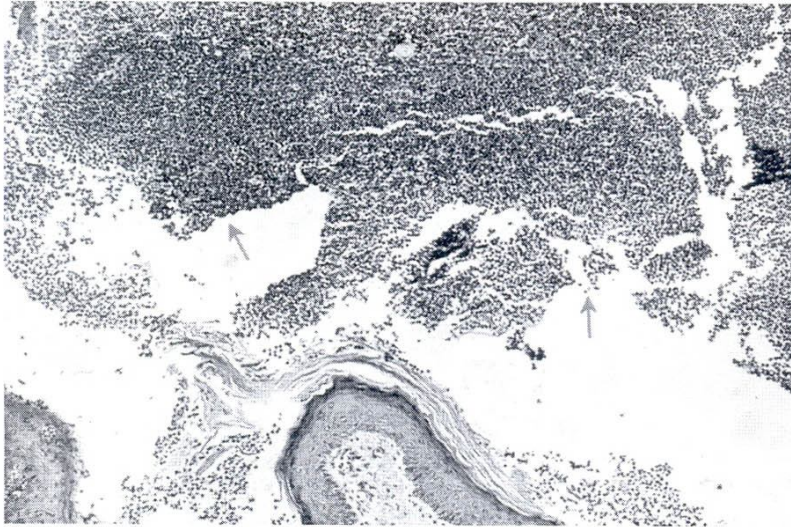


FIGURA 5 – Grupo III (Controle). 3 dias. Próximo à mucosa gengival mostrando extensas áreas ocupadas por polimorfonucleares neutrófilos (setas). HR. Original. 63x.

Próximo à mucosa gengival observam-se extensas áreas ocupadas por polimorfonucleares neutrófilos, alguns em degeneração.

O ligamento periodontal remanescente é pouco vascularizado com pequeno número de fibroblastos e exibe moderado número de polimorfonucleares neutrófilos. Junto aos terços médio e apical, este tecido conjuntivo é bem vascularizado e rico em fibroblastos. Nota-se ausência de proliferação fibroblástica e capilar junto ao ligamento periodontal (FIGURA 6).

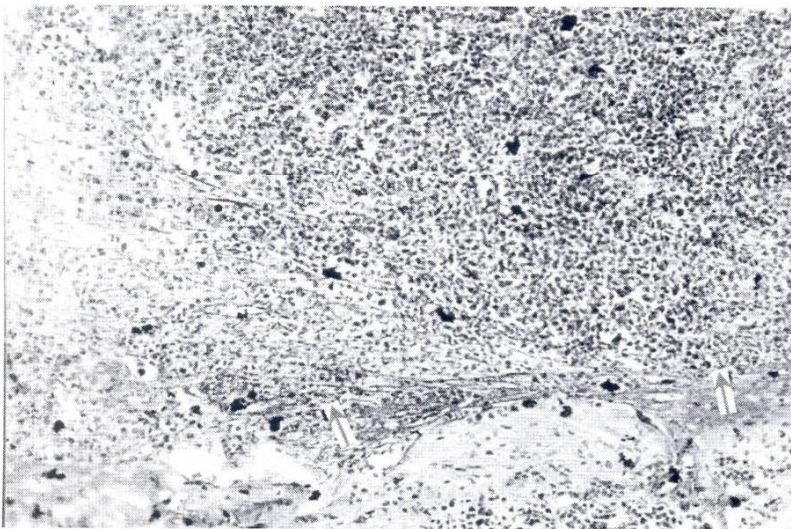


FIGURA 6 – Grupo III (Controle). 3 dias. Terço médio junto ao ligamento periodontal com ausência de proliferação fibroblástica (setas). HE. Original. 160x.

OKAMOTO, Tetuo et al. Efeitos da antissepsia com clorexidina sobre o crescimento bacteriano em suturas com fio de algodão. Estudo microbiológico e histomorfológico em ratos. *Salusvita*, Bauru, v. 18, n. 2, p. 53-64, 1999.

OKAMOTO, Tetuo
et al. Efeitos da
antisepsia com
clorexidina sobre o
crescimento bacteri-
ano em suturas com
fio de algodão.
Estudo microbi-
ológico e histomor-
fológico em ratos.
Salusvita, Bauru,
v. 18, n. 2, p. 53-64,
1999.

DISCUSSÃO

A clorexidina é uma molécula catiônica cuja atividade antimicrobiana e substantividade muito tem corroborado para seu uso como antisséptico em Odontologia. Embora a susceptibilidade dos microrganismos a esse composto varie consideravelmente, poucos são aqueles que sobrevivem às formulações de clorexidina comumente utilizadas (Hammond et al., 1987).

Os efeitos tóxicos da clorexidina sobre a microbiota foram extensivamente discutidos por Woodcock (1988), consistindo de rápida penetração na célula bacteriana, adsorção a radicais fosfato presentes na superfície da mesma, ligação à membrana citoplasmática com alterações na permeabilidade, levando à perda de compostos de pequeno peso molecular e, por fim, morte celular.

A segurança e eficácia do uso da clorexidina como agente de antisepsia da pele e da mucosa bucal (O'Connor, 1984) têm favorecido o seu emprego na área cirúrgica. Contudo, a possibilidade de seleção dos microrganismos resistentes à clorexidina, em ambientes em que se utiliza constantemente esse antisséptico, existe, embora alguns autores não tenham observado nada nesse sentido.

A maioria das infecções bucais são causadas por microrganismos oportunistas, habitantes normais da microbiota bucal, de forma que a redução do número de microrganismos presentes na área da ferida cirúrgica é requisito básico de um antisséptico (Bakakeen & Strahan, 1980), diminuindo a magnitude da bacteremia transitória resultante, por exemplo, da remoção de sutura após exodontia.

Os resultados apresentados na TABELA 1 demonstraram a eficácia da formulação de clorexidina testada na descontaminação do fio de sutura, 72 horas após a realização de exodontia, nos animais experimentais. A rápida redução do número de microrganismos presentes sobre o fio de sutura pode assim colaborar para diminuir a possibilidade de disseminação desses microrganismos para áreas mais profundas do hospedeiro, particularmente em pacientes com maior risco de desenvolver endocardite infecciosa ou pacientes imunocomprometidos.

Além desse aspecto, a clorexidina tem afinidade de ligação com superfícies carregadas negativamente, como mucosa bucal, materiais restauradores, dente e placa bacteriana, mantendo sua ação por horas (Gjeramo et al., 1974). Desta forma, além de atuar sobre a microbiota presente no fio de sutura, a clorexidina poderia inibir os microrganismos situados na superfície do coágulo presente no alvéolo dental e mucosas adjacentes, prevenindo uma maior infecção da área traumatizada.

Os cortes de tecido corados pelo método de Brown e Brem mostraram, nos três grupos de estudo, a presença de pequeno número de cocos Gram-positivos e bastonetes Gram-negativos curtos e, principalmente, fusiformes sobre a superfície do coágulo, por vezes aderidos a eritrócitos presentes junto à porção externa do coágulo.

A similaridade dos dados observados entre os diferentes grupos pode ter resultado da eliminação dos depósitos bacterianos mais espessos, situados junto ao fio de sutura, quando da remoção deste último ou pelo processamento laboratorial das peças teciduais. Contudo, é sabido que apenas raramente os microrganismos anfibióticos, como as bactérias bucais, invadem profundamente os tecidos ou o fazem em número elevado, isto em função de diferentes fatores associados à resistência do hospedeiro e ao potencial de óxido-redução tecidual que, sendo oxidado, não colabora para o estabelecimento desses microrganismos exigentes (Willis, 1985).

Outro aspecto que merece ser destacado é que a viabilidade dos microrganismos observados nos cortes teciduais não pode ser comprovada, de forma que parte dos microrganismos, nas peças teciduais dos animais do grupo da clorexidina, podem ter perdido a viabilidade não podendo ser cultivados *in vitro*.

CONCLUSÕES

Dentro das condições experimentais seguidas no presente trabalho é possível concluir que:

1) o emprego da clorexidina ocasionou uma diminuição significativa da contaminação bacteriana na superfície do fio de sutura, no ato de sua remoção;

2) a antisepsia com a clorexidina possibilitou uma neoformação fibroblástica e capilar mais precoce no alvéolo dental quando comparado aos demais grupos.

OKAMOTO, Tetuo et al. Effects of introaral antisepsis with chlorhexidine solution on the bacteria growth in cotton suture. A microbiological and histomorphologic study in rats. *Salusvita*, Bauru, v. 18, n. 2, p. 53-64, 1999.

ABSTRACT

The aim of this paper was to evaluate the antibacterial action of chlorhexidine on the multifilamentary suture after dental extraction. Eighteen rats were divided into three groups : Group I (chlorhexidine I-PVP) – six rats were submitted to intra-oral antisepsis with chlorhexidine solution; Group II (saline solution) – six rats were submitted to antisepsis with saline solution ; Group III – six rats which were not submitted to any antiseptic procedure. After that, the extraction of the right central incisors was carried out and the mucosa was sutured with cotton suture. After seventy two hours, the same intra-oral antisepsis was performed in Group I and II and the suture from all Groups was removed and sent to the lab that evaluated the aerobic and

OKAMOTO, Tetuo et al. Efeitos da antisepsia com clorexidina sobre o crescimento bacteriano em suturas com fio de algodão. Estudo microbiológico e histomorfológico em ratos. *Salusvita*, Bauru, v. 18, n. 2, p. 53-64, 1999.

OKAMOTO, Tetuo et al. Efeitos da antissepsia com clorexidina sobre o crescimento bacteriano em suturas com fio de algodão. Estudo microbiológico e histomorfológico em ratos. *Salusvita*, Bauru, v. 18, n. 2, p. 53-64, 1999.

anaerobic bacteria growth. Histological preparation from the right maxilla was stained with Gram, hematoxilin, and eosin technique. The results demonstrated that : the use of Chlorhexidine allowed a significant reduction of bacterial contamination on the surface of the suture; it allowed the capillary and fibroblastic proliferation in the dental socket in a short period of time.

Key Words: antiseptics, chlorhexidine, suture.

AGRADECIMENTOS

Trabalho desenvolvido com o auxílio da FAPESP (Processo nº 95/7071-0).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKAKEEN, G., STRAHNA, J. D. Effects of a 1% chlorhexidine gel during the healing phase after inverse level muco gingival flap surgery. *J. Clin. Periodontol*, v. 7, p. 20-25, 1980.
- GJERMO, P., BANESVOLL, P., RÖLLA, G. Relationship between plaque inhibiting effect and retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Arch. Oral Biol.*, v. 19, p. 1031-1034, 1974.
- HAMMOND, S. A., MORGAN, J. R., RUSSEL, A. D. Comparative susceptibility of hospital isolates of Gram-negative bacteria of antiseptics and disinfectants. *J. Hosp. Infect.*, v. 9, n. 3, p. 255-264, 1987.
- KING, R. C., CRAWFORD, B. A., SNALL, E. W. Bacteremia following intraoral suture removal. *Oral Surg Oral Med. Oral Pathol.*, v. 65, n. 1, p. 23-28, 1988.
- LACERDA, R. A. Antissepsia: Degermação e preparo pré-operatório da pele. In : _____. *Buscando compreender a infecção hospitalar no paciente cirúrgico*. São Paulo: Atheneu, 1992, p. 53-60.
- MORSE, A. Formic acid-sodium citrate decalcification and butyl alcohol dehydration of teeth and bone sectioning in parafin. *J. Dent. Res.*, v. 24, p. 143, 1945.
- O'CONNOR, A. G. Glove preventure during operation. *Nurs-Times*, v. 80, p. 5-6, 1984. Suppl.
- OKAMOTO, T., RUSSO, M. C. Wounds healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. *Rev. Fac. Odont. Araçatuba*, v. 2, p. 253-268, 1973.

- PERRI de CARVALHO, A. C., OKAMOTO, T. Reparação do alvéolo dental. In: _____. *Cirurgia bucal*. Fundamentos experimentais aplicados à clínica. São Paulo: Panamericana, 1987, p. 55-80.
- RANDALL, E., BRENMAN, H. S. Local degerming with povidone iodine. Part. I. Prior to prophylaxis. *J. Periodontol*, v. 45, p. 866, 1974.
- SALOMÃO, J. F. S. et al. Effect of antiseptics of the human surgical wound on bacterial growth on cotton suture. *Rev. Fac. Farm. Odont. Ribeirão Preto*, v. 19, p. 11-20, 1982.
- WILLIS, T. Host factors predisposing to anaerobic infections. *Scand. J. Infect. Dis*, v. 46, p. 18-26, 1985.
- WITZENBERGER, T., O'LEARY, T. J., GILLETTE, W. B. Effect of a local germicide on the occurrence of bacteremia during subgingival scaling. *J. Periodontol.*, v. 53, p. 172, 1982.
- WOODCOCK, P. M. Biguanides as insusial biocides. In : PAYNE, R. R. *Industrial Biocides*. Chichester, John Wiley, 1988. p. 19-36.
- OKAMOTO, Tetuo et al. Efeitos da antissepsia com clorexidina sobre o crescimento bacteriano em suturas com fio de algodão. Estudo microbiológico e histomorfológico em ratos. *Salusvita*, Bauru, v. 18, n. 2, p. 53-64, 1999.