

Matos, L. M. R. et al.



## PESQUISA

**Efeito dos antissépticos com e sem álcool sobre a microbiota oral**  
*Effect of Antiseptic with and without alcohol on the oral microbiota*  
*El Efecto del enjuagante con/ sin el alcohol en la microbiota oral*

Luanne Mara Rodrigues de Matos<sup>1</sup>, Lucas Portela Oliveira<sup>2</sup>, Maraisa Greggio Delboni Serra e Silva<sup>3</sup>, Marcelo Lopes Silva<sup>4</sup>

**RESUMO**

Este trabalho avaliou o efeito antisséptico da clorexidina 0,12% sem álcool e do cetilpiridínio 0,5% com álcool sobre os microorganismos presentes na cavidade bucal, evidenciando o potencial redutor de modo comparativo. Trata-se de um estudo descritivo, de abordagem quantitativa onde foram selecionados 14 voluntários. Os antissépticos pesquisados possuem como princípio ativo o digluconato de clorexidina 0,12%, cloreto de cetilpiridínio 0,5%, além de um antisséptico à base de óleos essenciais. Os mesmos variavam entre a presença, ou não, de álcool em sua composição. Foram utilizados corpos descartáveis com volume de 50ml. Desta forma, 2,0 ml de saliva não estimulada foi coletada de cada voluntário, sendo a mesma diluída, semeada em ágar sólido bhi, incubada a 37°C por 48 horas. As unidades formadoras de colônias (ufc/ml) foram calculadas a partir do cálculo de potencial de redução. Os dados obtidos foram submetidos ao teste estatístico ANOVA e Tukey's Multiple Comparison test., considerando  $p < 0,05$ . Os referidos antissépticos mostraram redução estatisticamente significativa, quando comparados ao grupo controle. A clorexidina 0,12% sem álcool apresentou, de forma estatisticamente significativa, melhores resultados quando comparada ao cetilpiridínio 0,5% com álcool. Observou-se uma redução significativa de microorganismos nos antissépticos que não possuem álcool em sua composição. **Descritores:** Antissépticos bucais. Microbiota. Saliva.

**ABSTRACT**

This study evaluated the effect of antiseptic chlorhexidine 0.12% alcohol and 0.5% cetylpyridinium with alcohol on the microorganisms present in the oral cavity, evidencing the reducing potential in a comparative mode. This is a descriptive study with a quantitative approach which we selected 14 volunteers. The antiseptic contains active ingredient 0.12% chlorhexidine digluconate, cetylpyridinium chloride 0.5%, and an antiseptic essential oils to the base. The presence or not of alcohol in the composition was variate. Disposable cups were used with volume of 50ml. Thus, 2.0 ml of saliva was collected from each volunteer, the same being diluted, plated on solid agar BHI incubated at 37 for 48 hours. The colony forming units (cfu / ml) were calculated from the reduction potential calculation. The data were submitted to ANOVA and Tukey's Multiple Comparison test. Considering  $p < 0.05$ . These antiseptics have showed statistically significant reduction compared to the control group. The antiseptics that contained 0.12% chlorhexidine alcohol have showed better action in comparison to 0.5% cetylpyridinium with alcohol. It was observed significant reduction in microorganisms with the use of antiseptics that do not have alcohol in the composition. **Descriptors:** Antiseptic. Oral microbiota. Saliva

**RESUMEN**

Este estudio evaluó el efecto de la clorhexidina 0,12% de alcohol y 0,5% de cetilpiridinio antiséptico con alcohol sobre los microorganismos presentes en la cavidad oral, que muestra el modo comparativo potencial reductor. Se trata de un estudio descriptivo con un enfoque cuantitativo que se seleccionaron 14 voluntarios. Los antisépticos han investigado ingrediente activo es de 0,12% digluconato de clorhexidina, cloruro de cetilpiridinio 0,5%, y un antiséptico aceites esenciales a la base. Se variaron entre la presencia o no de alcohol en la composición. Cuerpos desechables se utilizaron con volumen de 50 ml. Por lo tanto, se recogieron 2,0 ml de saliva de cada voluntario, el mismo ser diluida chapada en agar BHI sólido incubó a 37°C durante 48 horas. Las unidades formadoras de colonias (ufc / ml) se calcularon a partir del cálculo potencial de reducción. Los datos fueron sometidos a ANOVA y Tukey prueba de comparación múltiple. Considerando  $p < 0,05$ . Estos antiséptico reducción estadísticamente significativa en comparación con el grupo control. Un alcohol de clorhexidina 0,12% mostraron una estadística y significativamente mejores resultados en comparación con 0,5% de cetilpiridinio con alcohol. Hubo una reducción significativa en los microorganismos antisépticos que no tienen alcohol en la composición. **Descriptor:** Antisépticos orales. Microbiota. Saliva.

R. Interd. v. 8, n. 4, p. 174-180, out. nov. dez. 2015

Matos, L. M. R. et al.

<sup>1</sup> Acadêmico da graduação (9º período) do Curso de Odontologia da Faculdade Integral Diferencial - FACID/Devry. <sup>2</sup> Acadêmico da graduação (9º período) do Curso de Odontologia da Faculdade Integral Diferencial - FACID/Devry. <sup>3</sup> Professora do Curso de Odontologia da FACID/Devry, Doutora em Endodontia UNICAMP. <sup>4</sup> Professor do Curso de Odontologia da FACID/Devry, Mestre em Odontologia UFMA.

## INTRODUÇÃO

Antissépticos bucais são substâncias químicas utilizadas para controle do biofilme dentário (MOREIRA et al., 2009; ANDREOLLI; LARA, 2004). São preconizadas como complementação à prevenção mecânica da formação do biofilme dentário por inibirem a ação microbiana, além disso, representam o meio simples para a veiculação de substâncias antissépticas (MOREIRA et al., 2009; SANTOS et al., 2011).

Os antissépticos apresentam formulações com função de eliminar ou inibir o crescimento de micro-organismos quando aplicados sobre a pele ou mucosas. Uma característica importante a ser acrescida aos antissépticos é a atividade residual, ou seja, atividade química persistente sobre a pele (SANTOS et al., 2011; REIS et al., 2011).

As propriedades de um antisséptico ideal incluem: estabilidade, baixa tensão superficial, poder germicida e letal em baixas concentrações, ausência de toxicidade e poder de penetração. No entanto, nenhum produto disponível no mercado possui todos os requisitos acima citados, o que justifica os efeitos colaterais ou a pouca eficiência apresentada por alguns. Várias substâncias antimicrobianas são utilizadas sob a forma de antissépticos bucais: fluoreto de sódio, cloreto de cetilpiridínio, triclosan, timol, clorexidina, tirotricina, dentre outras (MOREIRA et al., 2009; ZANIN et al., 2007).

A clorexidina, princípio ativo de algumas marcas comerciais, tem se mostrado eficiente no controle químico do biofilme dentário. É uma bisguanidina catiônica com atividade antimicrobiana sobre bactérias Gram positivas, R. Interd. v. 8, n. 4, p. 174-180, out. nov. dez. 2015

Gram negativas e leveduras, que reduz a formação do biofilme (ENNIBI et al., 2013; ROCHA et al., 2006; HORTENSE et al., 2010; HASS et al., 2010).

O cloreto de cetilpiridínio é um composto monovalente, catiônico, tenso ativo e pertence ao grupo dos compostos quaternários de amônia (MOREIRA et al., 2009; ANDREOLLI; LARA, 2004). É mais efetivo contra Gram-positivos, provocando aumento da permeabilidade celular e rompimento da parede celular bacteriana. Mesmo após longo período de uso, não altera o equilíbrio da microbiota bucal. O uso prolongado dessa substância pode causar sensação de queimação, descoloração dos dentes, ulcerações recorrentes e aumento da formação do cálculo (MOREIRA et al., 2009; ANDREOLLI; LARA, 2004; HASS et al., 2010; ENRILE DE ROJAS; SANTOS, 2005).

Antissépticos, os quais possuem como princípio ativos os óleos essenciais, sendo composto por timol, eucaliptol, mentol e salicilato de metila, agem lesando a parede celular bacteriana, inibindo os sistemas enzimáticos, diminuindo os lipopolissacarídeos e o conteúdo proteico da placa bacteriana (HASS et al., 2010; ENRILE DE ROJAS; SANTOS, 2005). Possui baixa substantividade, sensação de queimação, gosto amargo, manchas nos dentes e injúrias ao tecido bucal, o que constituem seus efeitos colaterais (MOREIRA et al., 2009).

Antissépticos bucais disponíveis comercialmente, geralmente contêm níveis elevados de álcool que variam de 3 a 50%. Isto pode produzir uma sensação de queimação nas bochechas, dentes e gengivas, ou pode causar

Matos, L. M. R. et al. intoxicação por ingestão ou uso excessivamente. O álcool é muitas vezes utilizado nos antissépticos bucais como solvente para outras substâncias e como conservante do preparo (ARMENTA et al., 2006; CARRETO PELAEZ et al., 2004; LORCA; CARRASQUER, 2005).

A ingestão ocasional ou mesmo crônico de antisséptico bucal não pode causar efeitos na saúde, exceto os efeitos do etanol sozinho. Apenas em posições extremas, ingredientes tais como timol ou salicilato de metila podem exacerbar os efeitos do etanol, em especial, ao contribuir para a acidose metabólica (LORCA; CARRASQUER, 2005; LACHENMEIER et al., 2013).

Segundo Santos et al. (2010, p.12)

O uso de antissépticos bucais deve apresentar indicação precisa do cirurgião-dentista, para que sua utilização apresente efeitos, e não apenas utilizá-los como produtos que diminuiriam o número de micro-organismos, por períodos prolongados.

A Odontologia ainda busca aquele que possa ser chamado de “o agente ideal” para o controle químico do biofilme dentário e, visando contribuir para esta área, idealizou-se esta pesquisa que tem como objetivo verificar o potencial redutor dos antissépticos com e sem álcool sobre a microbiota oral além de identificar a diminuição de microbiotas orais com o uso do produto.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito antisséptico da clorexidina 0,12% sem álcool e do cetilpiridínio 0,5% com álcool sobre os microorganismos presentes na cavidade bucal, evidenciando o potencial redutor de modo comparativo.

## METODOLOGIA

### *Efeito dos antissépticos com e sem álcool sobre...*

Após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética da FACID/Devry (Nº CAAE: 10114112.3.0000.5211 Plataforma Brasil), voluntários foram convidados a participarem e, após terem sido informados sobre a pesquisa, assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

Os alunos incluídos na pesquisa (n=14), acadêmicos do curso de odontologia, compreendidos na faixa etária entre 18 a 25 anos, de ambos os gêneros e raça aleatória, apresentavam saúde bucal adequada, tinham higiene bucal satisfatória, não utilizavam próteses removíveis ou aparelho ortodôntico, não apresentavam lesões de cárie ou sinais clínicos de doença periodontal. Submeteram-se à pesquisa através da coleta de seu conteúdo salivar, imediatamente antes e após bochechos com antissépticos. Foram selecionadas três marcas comerciais, utilizando produtos com e sem álcool em sua composição. Cada voluntário foi submetido a sete testes, entre estes: a) bochecho com água (controle); b) bochecho com antisséptico contendo cloreto de cetilpiridínio 0,5% com álcool; c) bochecho com antisséptico contendo cloreto de cetilpiridínio 0,5% sem álcool; d) bochecho com antisséptico contendo digluconato de clorexidina 0,12% com álcool; e) bochecho com antisséptico contendo digluconato de clorexidina 0,12% sem álcool; f) bochecho com antisséptico contendo óleos essenciais com álcool; g) bochecho com antisséptico contendo óleos essenciais sem álcool.

Os voluntários foram instruídos a realizarem a escovação diária duas horas antes da coleta. O intervalo entre os bochechos com as devidas composições já explicitadas foi de 7 dias.

Foram coletadas 2,0 ml de saliva não estimulada de cada em copos descartáveis com volume de 50ml. Após a coleta, cada aluno realizou novamente o bochecho com água

Matos, L. M. R. et al.

Antisséptico	Média	Mínima	Máxima	Desvio Padrão
Cloreto de Cetilpiridíneo 0,5% sem álcool	87,83	35,71	98,00	20,14
Cloreto de Cetilpiridíneo 0,5% com álcool	39,25	9,540	89,65	28,06
Digluconato de Clorexidina 0,12% sem álcool	90,00	42,85	100,0	17,64
Digluconato de Clorexidina 0,12% com álcool	68,82	37,50	100	19,47
Óleos essenciais sem álcool	80,28	42,85	97,50	19,70
Óleos essenciais com álcool	44,99	10,00	83,00	25,70
Água	2,225	0,0	8,690	3,004

(controle). Da saliva coletada, foram obtidas diluições decimais ( $10^{-2}$  a  $10^{-6}$ ), e 50 µl de cada diluição foram semeados em placas de Petri contendo ágar sólido (BHI), as quais foram incubadas por 48 h a 37°C. Após o período de incubação, as unidades formadoras de colônia (UFC) por placa com diluição ( $10^{-4}$ ) foram contadas e as UFC/ul calculadas a partir do cálculo do percentual de redução.

A cada semana, o experimento foi repetido nos mesmos voluntários, porém utilizando antissépticos com princípios ativos distintos.

Os resultados obtidos a partir do potencial de redução de cada antisséptico foram submetidos ao teste estatístico ANOVA e Tukey's Multiple Comparison Test., considerando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os produtos utilizados para bochecho e gargarejo na cavidade bucal normalmente utilizam álcool em sua formulação<sup>15</sup>. Outra importante característica do enxaguatório é a presença de agentes oxigenantes, tornando menos propício à colonização por bactérias anaeróbicas, e de agentes antimicrobianos (GERBRAN; GEBERT, 2002; HASTURK et al. 2004).

R. Interd. v. 8, n. 4, p. 174-180, out. nov. dez. 2015

Os resultados apresentados a partir do cálculo do potencial de redução da saliva inicial e após o bochecho e a comparação estatística estão expressos na Tabela 1.

**Tabela 1-** Potencial de redução da contaminação da saliva inicial e após o bochecho com o antisséptico e o grupo controle

Fonte: Pesquisa Direta.

Numerosos bochechos estão disponíveis para uso como parte de uma rotina de higiene bucal diária (BAHNA et al., 2007; SAAD; GREENMAN; SHAW, 2011). Várias substâncias antimicrobianas são utilizadas sob a forma de enxaguatórios: fluoreto de sódio, cloreto de cetilpiridínio, triclosan, timol, clorexidina, tirotricina, dentre outras (MONFRIN; RIBEIRO, 2000).

O álcool é um potente antimicrobiano, mas também é irritante, especialmente à mucosa sensível ou inflamada (BAHNA et al., 2007; LORCA; CARRASQUER, 2005). Segundo Blanc, Baruzzi e Pannuti (2007) ambos os fatores são motivo de preocupação para os cuidados orais, ou reações na mucosa bucal como a mucosite, e, portanto, seria benéfico a utilização de um enxaguante bucal que não utilize este veículo em sua composição.

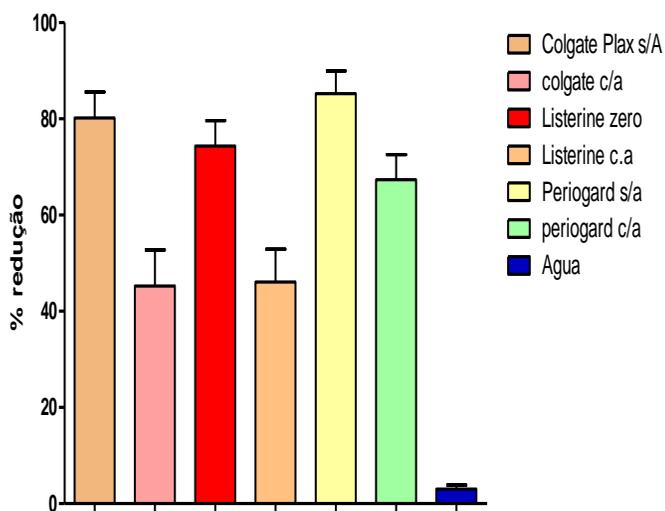
O álcool é muitas vezes utilizado nos antissépticos bucais como solvente para outras substâncias e como conservante do preparo (ARMENTA et al., 2006; CARRETO PELAEZ et al., 2004). No entanto, o fato do álcool agir como solvente dos princípios ativos presentes nos antissépticos bucais possa reduzir a eficácia do mesmo, e com os resultados obtidos pode-se observar na Tabela 1, que os antissépticos com álcool obtiveram uma média de potencial redutor inferior aos antissépticos sem álcool.

Matos, L. M. R. et al.

Segundo Bahna et al. (2007), os antissépticos bucais que contêm clorexidina promovem uma redução significativa na carga microbiana da cavidade oral. A clorexidina é um dos agentes anti-microbianos mais eficazes para controlar a placa dental. Apresenta amplo espectro sobre as bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, fungos e leveduras. Diminui significativamente a placa, pois afeta a aderência microbiana, aumenta a permeabilidade celular por meio do rompimento da bactéria ou age através da coagulação e precipitação dos seus constituintes citoplasmáticos (GERBRAN; GEBERT, 2002 ; SOUZA; ABREU, 2003).

Os resultados do presente estudo demonstraram que o antisséptico que tem como princípio ativo o digluconato de clorexidina 0,12% sem álcool obteve uma média de potencial de redução superior ao antisséptico com álcool e aos demais testados, como observado no gráfico 1.

Gráfico 1 - Média e desvio padrão do % redutor.



Fonte: Pesquisa Direta.

O cloreto de cetilpiridínio de acordo com Enrile e Santos (2005) é rapidamente reabsorvido pela mucosa oral. Também tem sido demonstrado que as propriedades antibacterianas destes R. Interd. v. 8, n. 4, p. 174-180, out. nov. dez. 2015

### *Efeito dos antissépticos com e sem álcool sobre...*

compostos são reduzidas, uma vez absorvidos por uma superfície. Seu mecanismo é semelhante ao da clorexidina, porém com menor eficácia devida à sua baixa substantividade (ENRRILE; SANTOS, 2005; GARCIA et al., 2011; GERBRAN; GEBERT, 2002). Sua menor eficácia pode ser atribuída a sua concentração de 0,05% comum nos produtos comerciais, portanto a ação do agente antimicrobiano depende da concentração empregada. É mais efetivo contra Gram-positivos, provocando aumento da permeabilidade celular e rompimento da parede celular bacteriana (GERBRAN; GEBERT, 2002). Através da pesquisa realizada, os antissépticos contendo cloreto de cetilpiridínio sem álcool obtiveram um resultado satisfatório na redução dos microorganismos.

Antissépticos onde seu princípio ativo são os óleos essenciais, de acordo com Moreira et al. (2009) não apresentam carga, baixa substantividade e possui moderada atividade antimicrobiana, o que talvez possa justificar uma média de potencial de redução apresentada na Tabela 1 pelo antisséptico sem álcool deste princípio ativo. Age lesando a parede celular bacteriana, inibindo os sistemas enzimáticos e diminuindo os lipopolissacarídeos e o conteúdo proteico da placa bacteriana (MENDES; ZENÓBIO; PEREIRA, 1995).

De acordo com Santos et al. (2011), o controle mecânico é o fator responsável para a remoção da placa bacteriana, sendo que o controle químico atua na desorganização parcial da mesma.

Assim, o uso dos antissépticos bucais deve atuar como auxiliar na higiene bucal. Sugere-se que novas pesquisas possam ser realizadas, com a comparação de antissépticos com princípios ativos variados e o efeito do álcool sobre a microbiota.

## CONCLUSÃO

Matos, L. M. R. et al.

A quantidade de antissépticos existentes no mercado se mostra como uma vantagem perante aos recursos que se dispõe a combater microorganismos bucais, e assim favorecer a higiene bucal. Agem como complementação à ação mecânica da formação do biofilme, reduzindo a quantidade de micro-organismos que se encontram presentes na boca, e que prejudicam a saúde bucal.

O antisséptico em que seu princípio ativo é o digluconato de clorexidina 0,12% sem álcool foi o que apresentou a média mais elevada para o potencial de redução, mostrando assim a sua eficácia, e reforçando uma vantagem para seu uso perante algum procedimento clínico e terapêutico, com acompanhamento pelo profissional. Observou-se uma redução significativa de micro-organismos nos antissépticos que não possuem álcool em sua composição.

## REFERÊNCIA

ANDREOLLI, R. S.; LARA, G.H.E. Avaliação "in vitro" da eficácia de enxaguatórios bucais remineralizantes. *Infarma*, Ribeirão Preto, v.16, n. 7-8, p.58-63, 2004.

ARMENTA, S. et al. Development of a simple and low cost device for vapour phase Fourier Transform Infrared spectrometry determination of ethanol in mouthwashes. *Analytica Chimica Acta*, v. 569, n. 1, p.238-243, 2006.

BAHNA, P. et al. Antiseptic effect of a novel alcohol-free mouthwash: A convenient prophylactic alternative for high-risk patients. *Oral Oncology*, v. 43, p.159-164, 2007.

BLANC, S.A.L.; BARUZZI, A.M.; PANNUTI, C.M. Colutórios que contém álcool e câncer bucal - Revisão de estudos epidemiológicos. *Revista de Periodontia*, v.17, n.4, dez, 2007.

CARRETO PELÁEZ, M.A. et al. Alcohol-containing mouthrinses and oral cancer. Critical analysis of literature. *Med Oral*, v.9, p 166-173, 2004.

R. Interd. v. 8, n. 4, p. 174-180, out. nov. dez. 2015

ENNIBI, O. et al. Chlorhexidine alcohol base mouthrinse versus Chlorhexidine formaldehyde base mouthrinse efficacy on plaque control: Double blind, randomized clinical trials. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, v. 18, n. 1, p. 135-9, jan, 2013.

ENRILE DE ROJAS, F.J.; SANTOS, A. A. Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica. *RCOE*, v.10, n. 4, p. 445-452, 2005.

GARCÍA, V. et al. Plaque inhibitory effect of a 0.05% cetyl-pyridinium chloride mouth-rinse in a 4-day non-brushing mode. *Int J Dent Hygiene*, v. 9, n. 4, p. 266-273, 2011.

GERBRAN P. M.; GEBERT, O.P.A. Controle químico e mecânico de placa bacteriana. *Tuiuti: Ciência e Cultura*, Curitiba, v. 3, n. 26, p. 45-58, jan, 2002.

HASS, A.N. et al. Dental Students' Overall Knowledge Regarding Oral Antiseptics. *Revista de Periodontia*, v. 20, n. 3, set, 2010.

HASTURK, H. et al. Efficacy of a Fluoridated Hydrogen peroxide-based Mouthrinse for the treatment of gingivitis: a randomized clinical trial. *J Periodontal*, v. 75, n.1, p.57- 65, 2004.

HORTENSE, S. R. et al. Uso da clorexidina como agente preventivo e terapêutico na Odontologia. *Revista de odontologia da Universidade da Cidade de São Paulo*, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 178-184, maio-ago. 2010.

LACHENMEIER, D.W. et al. What happens if people start drinking mouthwash as surrogate alcohol? A quantitative risk assessment. *Food and Chemical Toxicology*, v. 51, n. 1, p.173-178, 2013.

LORCA, S.A.; CARRASQUER, B.A. Efecto local de los colutorios con contenido alcohólico: revisión de la literatura. *RCOE*, 2005, v.10, n.4, p.407-412, 2005.

MONFRIN, R.C.P.; RIBEIRO, M.C. Avaliação in vitro de anti-sépticos bucais sobre a microbiota da saliva. *R. Assoc. Paul. Cir. Dent.*, São Paulo, v.54, n.1, p.401-407, 2000.

MENDES, M. M. S.; ZENÓBIO, E. G.; PEREIRA, O. L. Agentes químicos para o controle da placa bacteriana. *Periodontia*, Fortaleza, v.5, n.2, p.253-256, 1995.

MOREIRA, A.C.A. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. *Revista de Ciências médicas e biológicas*, Salvador, v.8, n.2, p.153-161, mai./ago, 2009.

REIS, L. M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de antissépticos e desinfetantes utilizados em um serviço público de saúde. *Revista brasileira de Enfermagem*, Brasília, v.64, n.5, p. 870-875, set-out. 2011.

ROCHA, B.B.G.C.; REIS, C. PIMENTA.C.F. Contagem e identificação de microrganismos na saliva de portadores do vírus da imunodeficiência humana antes

Matos, L. M. R. et al.  
e após higienização e bochecho com antissépticos. *Revista de Patologia Tropical*, Goiânia, v.35, n.2, p. 125-133, maio-ago, 2006.

SAAD.S; GREENMAN. J.; SHAW. H. Comparative effects of various commercially available mouthrinse formulations on oral malodour. *Oral Diseases*, v.17, n. 2, p. 180-186, 2011.

SANTOS, S.S.F. et al. Avaliação do efeito overnight de antissépticos bucais. *Clipe Odonto*, v.3, n.1, p.9-12, 2011.

SOUZA, R.R.; ABREU, M.H.N.G. Análise crítica da indicação da clorexidina no controle da placa bacteriana e doença periodontal. *Arq. Odontol.*, Belo Horizonte, v.39, n.3, p.163-254, 2003.

ZANIN, S. M. W. et al. Enxaguatório Bucal: principais ativos edesenvolvimento de fórmula contendo extrato hidroalcoólico de *Salviaofficinalis* L. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v.8, n.1, jan- jun, 2007.

**Submissão: 02/07/2015**

**Aprovação: 26/08/2015**