

# Avaliação do efeito carcinogênico do antisséptico Gluconato de Clorexidina por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais (*warts*) em *Drosophila melanogaster*

*Evaluation of the carcinogenic effect of the antiseptic Chlorhexidine  
Gluconate by means of the test for the detection of clones of epithelial  
tumors (warts) in Drosophila melanogaster*

**Gean Paulo Andrade Reis**

Graduando do curso de Zootecnia (UNIPAM).

E-mail: [geanpaulo-reis@outlook.com](mailto:geanpaulo-reis@outlook.com)

**Mirley Alves Vasconcelos**

Professora orientadora (UNIPAM).

E-mail: [mirleyav@unipam.edu.br](mailto:mirleyav@unipam.edu.br)

---

**Resumo:** O fármaco Gluconato de Clorexidina tem sido muito utilizado no mercado como antisséptico, pois trata de um composto de fácil aquisição, grande potencial em desinfecção e baixo custo. Este estudo vem trazer a avaliação do potencial carcinogênico do Gluconato de Clorexidina por meio do teste de detecção de tumores epiteliais (*warts*) em *Drosophila melanogaster*. Para tanto, utilizaram-se larvas descendentes do cruzamento de fêmeas virgens wts/TM3 com machos mwh/mwh que foram cronicamente tratadas com um controle negativo (água de osmose reversa), um controle positivo doxorrubicina (DXR) a 0,4mM e três diluições distintas do Gluconato de Clorexidina a 2% (20, 10 e 5%) separadamente. Os resultados não mostraram diferença significativa na frequência de tumores nos indivíduos tratados com Gluconato de Clorexidina se comparados ao controle negativo. Concluímos que, nas presentes condições experimentais, o Gluconato de Clorexidina não induz, significativamente, a formação de tumores em *Drosophila melanogaster*.

**Palavras-chave:** Antissepsia. Câncer. Wts.

**Abstract:** The drug Chlorhexidine Gluconate has been widely used in the market as an antiseptic, because it is a compound that is easy to acquire, with great potential for disinfection and low cost. This study brings the evaluation of the carcinogenic potential of Chlorhexidine Gluconate through the test for detection of epithelial tumors (*warts*) in *Drosophila melanogaster*. For that, larvae descended from the crossing of virgin wts / TM3 females with males mwh / mwh were chronically treated with a negative control (reverse osmosis water), a positive control doxorubicin (DXR) at 0.4mM and three dilutions different from 2% Chlorhexidine Gluconate (20, 10 and 5%) separately. The results showed no significant difference in the frequency of tumors in individuals treated with Chlorhexidine Gluconate compared to the negative control. We conclude that, in the present experimental conditions,

Chlorhexidine Gluconate does not significantly induce the formation of tumors in *Drosophila melanogaster*.

**Keywords:** Antisepsis. Cancer. Wts.

---

## 1 INTRODUÇÃO

Dados estatísticos vêm demonstrando um aumento anual de pessoas (INCA, 2016) e animais domésticos (HORTA; LAVALLE, 2013) acometidos por algum tipo de câncer. Estima-se que a cada três pessoas uma terá o diagnóstico de câncer durante a vida (SILVA; NEPOMUCENO, 2011) e que aproximadamente 4 milhões de cães e 4 milhões de gatos são diagnosticados com câncer a cada ano (STEFFENON, 2014). Segundo Silva *et al.* (2004), o estilo de vida da sociedade moderna pode ter contribuído para o aumento destas estatísticas, diante da grande exposição aos fatores potencialmente carcinogênicos.

Definido como o processo de formação do câncer, a carcinogênese é resultado de mutações genéticas herdadas ou adquiridas pela ação de agentes físicos, químicos ou biológicos (BEDOR, 2008). Os agentes químicos potencialmente carcinógenos são amplamente distribuídos e encontrados na natureza, desde alimentos naturais até compostos modificados pelo homem. Para a carcinogênese ser gerada por agentes químicos, diversos fatores têm que ser levados em consideração, uma vez que a exposição a esse agente pode provocar uma mutação no DNA. Porém, nem sempre está mutação levará à formação de tumores, devido à eficiência no sistema de reparação do DNA do próprio organismo (BRASILEIRO FILHO, 2011).

Domingues (2013) afirma que entre os agentes químicos estão os antissépticos, que impedem e bloqueiam o desenvolvimento ou a ação de organismos indesejáveis. A sua utilização na desinfecção é de grande relevância, considerando a necessidade deste método na prevenção de doenças, uma vez que esta desinfecção controla ou elimina os microrganismos, atuando na sua estrutura e no seu metabolismo (DOMINGUES, 2013).

O fármaco Gluconato de Clorexidina tem sido muito utilizado no mercado como antisséptico. Trata-se de um composto de fácil aquisição, grande potencial em desinfecção e baixo custo (AMORAS, 2013). A grande disseminação desse composto tem despertado o interesse dos pesquisadores em avaliar o seu possível efeito carcinogênico (RODRIGUES *et al.*, 2007; ERCIYAS *et al.*, 2010).

De acordo com os princípios da genética toxicológica, esses compostos que possuem histórico de causarem danos ao DNA, devem ser avaliados a partir de diferentes ensaios com organismos modelos distintos. Para tanto, ressalta-se a utilização da *Drosophila melanogaster* para a avaliação do efeito carcinogênico desses compostos por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais (*warts*).

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 GLUCONATO DE CLOREXIDINA

O composto sintético Gluconato de Clorexidina é considerado como uma bisbiguanida de propriedade alcalina, levemente hidrossolúvel, atóxico e apresenta ação bactericida e bacteriostática sobre bactérias gram-positivas, gram-negativas, além de agir sobre alguns fungos, leveduras e vírus lipofílicos (SANTOS *et al.*, 2016).

O Gluconato de Clorexidina foi sintetizado e introduzido no mercado entre as décadas de 40 a 50. Inicialmente era utilizado como antisséptico para ferimentos e limpeza da pele e/ou mucosas antes de procedimentos cirúrgicos (ZANATTA *et al.*, 2007). Segundo Carrilho *et al.* (2010), por volta de 1990, foram introduzidos no mercado três utensílios de uso médico que levam a clorexidina em sua composição. Foram estes os cateteres intravenosos, curativos tópicos cutâneos, antimicrobianos e as malhas cirúrgicas antimicrobianas. Tendo a eficiência antisséptica comprovada, o uso da clorexidina se expandiu desde a saúde humana até a saúde animal, sendo utilizada desde procedimentos cirúrgicos até mesmo na assepsia dos tetos de vacas na bovinocultura (AMORAS, 2013).

Segundo Palone (2014), a molécula catiônica do gluconato de clorexidina possui uma rápida atração pela carga negativa da superfície bacteriana, assim é aderida à membrana celular por interações eletrostáticas, por ligações hidrofóbicas ou pontes de hidrogênio. Essa adesão é uma concentração-dependente. De acordo com esse mecanismo de ação, uma super dosagem pode causar precipitação, coagulação das proteínas citoplasmáticas e morte bacteriana e, em dosagem baixas, a membrana celular é alterada, resultando num extravasamento dos componentes bacterianos de baixo peso molecular (PALONE, 2014).

Na saúde animal, a clorexidina atingiu grande parte do mercado, sendo utilizada para diferentes fins: (i) antissepsia de campos operatórios em cães (SILVA *et al.*, 2000), (ii) controles de microrganismos causadores de mastites contagiosa e ambiental (PEDRINI *et al.*, 2003) e *Aspergillus spp* do cativeiro de pinguins no Centro de Recuperação de Animais Marinhos (OSÓRIO *et al.*, 2007; XAVIER *et al.*, 2008), (iii) prevenção da onfalite em avestruzes recém eclodidos (SILVA *et al.*, 2010), (iv) aditivo em rações (SILVA *et al.*, 2010) e (v) pomadas para o tratamento de mastite necrosante canina (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

### 2.2 CÂNCER

O câncer é caracterizado como uma alteração celular causada por uma série de mutações no DNA, que são responsáveis pela multiplicação celular desordenada, desencadeando neoplasias que podem ser de caráter maligno ou benigno (PEREIRA; SANTOS, 2011).

O processo da carcinogênese envolve várias etapas: iniciação, promoção, progressão e manifestação; na primeira fase, a iniciação é descrita como a exposição das células aos carcinógenos, resultando nas mutações e nas multiplicações desordenadas das células. A exposição a esses carcinógenos levam a mutações em seus

genes controladores do ciclo celular, da apoptose e da diferenciação, causando um desequilíbrio (BRASILEIRO FILHO, 2011). Na etapa de promoção, as células iniciadoras continuam se multiplicando e dão início às primeiras lesões pré-neoplásicas sobre estímulos do agente carcinógeno promotor. Esse agente seleciona as células iniciadoras e desencadeia a expansão clonal, gerando um acúmulo de mutações e aumentando a instabilidade genética desta população celular (OLIVEIRA, 2013). As duas últimas etapas, que se constituem na progressão e na manifestação, são caracterizadas, respectivamente, pela evolução do tumor até a manifestação do câncer. Na etapa de progressão, o tumor continua evoluindo decorrente do desequilíbrio entre multiplicação celular e apoptose. Em seguida, essas células invadem vasos sanguíneos e linfáticos, atingindo tecidos nos quais ocorre a formação dos sítios de metástases, espalhando-se pelo corpo do paciente (HENRIQUES, 2016).

Segundo Oliveira (2013), muitos estudos reuniram informações suficientes de que um câncer pode ser resultado de um evento mutacional. A mutação é descrita como uma alteração do material genético (DNA) da célula causada por fatores exógenos, que podem ser químicos, físicos e biológicos, e por fatores endógenos, que podem ser genéticos, hormonais e imunológicos (PIEROLI, 1997; BEDOR, 2008).

Em todo o processo da carcinogênese, ocorrem mutações que podem estimular ou inibir os proto-oncogenes e os genes supressores de tumor (PEREIRA; SANTOS, 2011). Os proto-oncogenes são os genes relacionados com o crescimento, diferenciação e proliferação das células normais. As alterações mutacionais nesses genes podem transformá-los em oncogênese que, por sua vez, são os responsáveis pela multiplicação descontrolada das células, que vão resultar nos tumores; quando espalhadas pelo corpo tem-se a metástase (SILVA; NEPOMUCENO, 2011; ALVES; NEPOMUCENO, 2012). Já os supressores tumorais são genes que limitam a multiplicação e mantêm um equilíbrio por meio da apoptose (morte celular). Esses genes são de grande importância uma vez que agem como um controle natural dos tumores. Porém, uma mutação pode alterar as suas funções originais, inativando-os e induzindo a carcinogênese (SILVA *et al.*, 2004; ALVES; NEPOMUCENO, 2012)

Conforme mencionado anteriormente, a carcinogênese pode ser gerada por agentes exógenos, como é o caso de agentes químicos. Dentre os agentes químicos, vale ressaltar os fármacos que, em muitos casos, são altamente difundidos na população levando ao seu consumo desordenado, sendo, portanto, considerados possíveis agentes carcinogênicos.

### 2.3 GENÉTICA TOXICOLÓGICA

A genotoxicidade é uma área da genética que estuda o processo de alterações da molécula de DNA que afetam sua estrutura e função (PAIXÃO, 2014). Essas alterações são causadas por qualquer agente, seja ele físico, químico ou biológico; estes são identificados por meio de diferentes ensaios que avaliam um possível risco para o DNA do organismo (OLIVEIRA, 2013).

Strachan e Read (2016) afirmam que organismos complexos como modelos animais são extremamente importantes para o estudo em genética, uma vez que é possível analisar o funcionamento de genes e de processos patológicos. O estudo

desses organismos permite avaliar detalhadamente a fisiologia, investigar as bases celulares e moleculares de doenças, bem como realizar testes iniciais de medicamentos e terapias antes de serem destinados a ensaios em seres humanos (STRACHAN; READ, 2016).

Uma variedade de sequências genéticas é conservada nesses organismos modelos, fato considerado relevante, pois esses genes desempenham funções semelhantes em diferentes espécies. Muitos dos processos do desenvolvimento inicial e genes controladores são conservados em moscas, nematódeos, camundongos e humanos. Devido a essas similaridades genéticas, foi possível, para os geneticistas, estudar os fundamentos do metabolismo e desenvolvimento de doenças em organismos simples de laboratório, bem como explicar tais reações em eucariontes mais complexos (KLUG *et al.*, 2010).

Insetos são amplamente utilizados como organismos modelos há mais de 50 anos, em especial a *Drosophila melanogaster* ou mosca da fruta, que possui destaque no monitoramento a danos genéticos por agentes químicos e em pesquisas de mutação e testes para a identificação de agentes cancerígenos (NEPOMUCENO, 2015).

#### 2.4 *Drosophila melanogaster*

A *Drosophila melanogaster*, conhecida popularmente como mosca-da-fruta, tem sido utilizada em pesquisas genéticas desde 1909. Devido às suas peculiaridades como (i) fácil manejo em laboratório, (ii) pequeno ciclo de vida, (iii) grande progênie e principalmente (iv) por apresentar reações metabólicas semelhantes às dos mamíferos, essa espécie se mostrou de grande eficácia em testes que avaliam o potencial carcinogênicos e anticarcinogênicos de compostos (SILVA; NEPOMUCENO, 2011; ALVES; NEPOMUCENO, 2012).

Klug *et al.* (2010) afirmaram que um dos aspectos que possa ter dado a popularidade da *D. melanogaster* para análises genéticas é a facilidade de se observar o seu desenvolvimento corporal desde a fase embrionária até a adulta, dessa forma é possível analisar características fenotípicas como cor dos olhos, formato das asas, cerdas e organização dos segmentos. Qualquer alteração dessas características é reflexo de mutações nos genes que controlam os processos de diferenciação e desenvolvimento (KLUG *et al.*, 2010).

Os mamíferos possuem uma série de proto-oncogenes e genes supressores tumorais em homologia a essas moscas, motivo que levou ao desenvolvimento de estudos na indução e no desenvolvimento de tumores em *D. melanogaster* (ALVES; NEPOMUCENO, 2012). Nishiyama *et al.* (1999) identificaram o gene *warts (wts)*. Eles descreveram a homologia entre esse gene supressor de tumor nas moscas e o gene LATS1 em humanos. A deleção desse gene *wts* resulta no desenvolvimento de tumores por todo o corpo das moscas (ROCHA *et al.*, 2015).

O marcador *wts* em homozigose representa uma mutação recessiva que é letal nos zigotos. Por isso, ele é mantido na linhagem estoque, com a presença do balanceador cromossômico (*TM3*). As larvas heterozigotas (*wts/+*) são obtidas a partir do cruzamento entre linhagens *wts/TM3* e *multiple wing hairs (mwh/mwh)*. A perda dessa heterozigose nas células dos discos imaginais, causada por agentes carcinogênicos,

resulta na formação de clones de células nas larvas, que se desenvolvem como tumores na mosca adulta (SILVA; NEPOMUCENO, 2011).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 COMPOSTOS QUÍMICOS

##### 3.1.1 Doxorrubicina (DXR)

O Cloridrato de Doxorrubicina (DXR), com fórmula molecular  $C_{27}H_{29}O_{11}HCl$  (CAS 25316-40-9), é um fármaco que está presente no mercado com vários nomes comerciais, dentre eles, Adriblastina® RD, sendo este fabricado e embalado por Activis Italy S.p – Nerviano, Milão/Itália. É registrado, importado e distribuído por Pfizer Laboratório Ltda. É apresentado sob forma de ampolas de 50mg, com os seguintes compostos em sua constituição: cloridrato de doxorrubicina, manitol e lactose. Em todos os experimentos, foram utilizados 25mL de água de osmose reversa como solvente para diluir 0,03538g de DXR, resultando em uma concentração de 0,4mM. A DXR foi utilizada como o controle positivo.

##### 3.1.2 Gluconato de Clorexidina

O Gluconato de Clorexidina ou Digluconato de Clorexidina, com fórmula molecular  $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$ , massa molar  $505,45 \text{ g.mol}^{-1}$  (CAS 55-56-1), é um antisséptico de amplo espectro muito utilizado na desinfecção, devido à sua capacidade em inibir a proliferação de bactérias (gram-positivas e gram-negativas) e fungos. O fármaco é vendido em sua fórmula de matéria-prima pela empresa NEOBRAX® sob o nome de Digluconato de Clorexidina a 2%. Foram utilizadas 03 concentrações de Gluconato de Clorexidina (20%, 10% e 5%), sendo estas diluídas em água de osmose reversa.

#### 3.2 WARTS (WTS) - TESTE PARA DETECÇÃO DE CLONES DE TUMOR EPITELIAL EM *Drosophila melanogaster*

Para realização do teste *wts* (*warts*), foram utilizadas duas linhagens mutantes de *D. melanogaster* (*wts* e *mwh*) portadoras dos marcadores genéticos *warts* (*wts*, 3-100) e *multiple wing hairs*, (3-03), respectivamente. A linhagem *wts* foi gentilmente disponibilizada por Bloomington Drosophila Stock Center, da Universidade de Indiana nos Estados Unidos (USA), registrado sob o seguinte número: Bloomington/7052. Já a linhagem *mwh/mwh* foi prontamente cedida pelo Dr. Ulrich Graf (Physiology and Animal Husbandry, Institute of Animal Science, ETH Zurich, Schwerzenbach, Switzerland).

Os estoques das moscas são cultivados no Laboratório de Citogenética e Mutagênese do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM, sendo mantidos em frascos de ¼ de litro contendo meio de cultura de *D. melanogaster*. Esse meio é composto por 820 mL de água; 25g de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*); 11 g de ágar;

156 g de banana e 1g de nipagin. As linhagens são conservadas dentro de uma incubadora B.O.D. 411 D, a uma temperatura em torno de 25° C e 60% de umidade.

Durante a realização dos cruzamentos, machos e fêmeas foram colocados juntos em frascos contendo meio de cultura próprio para postura, no qual as fêmeas depositam seus ovos. Para obtenção de larvas heterozigotas de 72 horas *wts+/+mwh*, foi realizado o cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3,Sb<sup>1</sup>* e machos *mwh/mwh*. As larvas descendentes desse cruzamento foram tratadas com soluções constituídas de 5mL de gluconato de clorexidina de diferentes concentrações para verificação da sua toxicidade. Diante da taxa de sobrevivência, foram definidas três concentrações finais de gluconato de clorexidina (20%, 10% e 5%), que foram utilizadas isoladamente no experimento subsequente com os mesmos tipos de larvas mencionadas anteriormente. Nesse experimento, utilizou-se um controle negativo (água de osmose reversa) e um controle positivo (Doxorrubicina 0,4 mM).

A postura dos ovos ocorreu durante um período de aproximadamente 8 horas, em frascos contendo meio de cultura próprio para postura, uma base sólida de ágar (3% de ágar em água) e uma camada de fermento biológico suplementado com sacarose. Foram utilizadas as larvas de 72 horas do primeiro cruzamento, que foram transferidas para frascos contendo 1,5g de purê de batata.

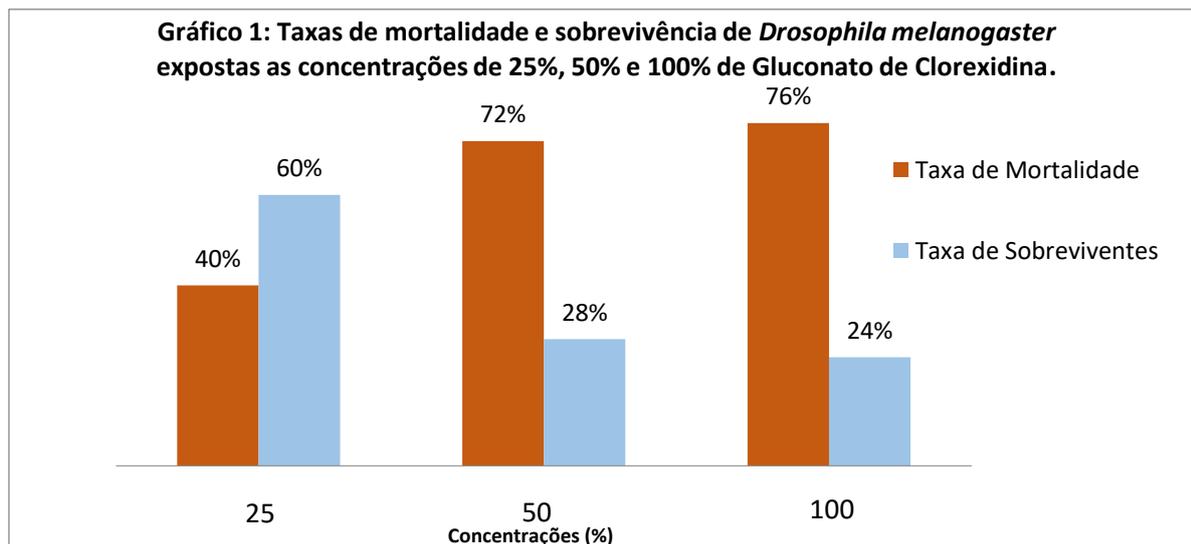
Nesta etapa do tratamento, as larvas ficaram expostas aos agentes químicos testados por um período crônico de aproximadamente 48 horas, até ocorrer a empupação. Após o tratamento, as moscas foram coletadas e armazenadas em frascos devidamente identificados, contendo etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) 70%. Somente as moscas adultas de pelos longos e finos foram analisadas, ou seja, somente aquelas portadoras do gene *wts*, com o balanceador cromossômico (*TM3, Sb1*) ausente.

No momento da análise, os indivíduos foram transferidos para uma placa escavada contendo glicerina (Glicerol, C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>), onde foram analisadas em uma lupa estereoscópica para visualização e contagem da presença de tumores. Para registrar a frequência de tumores, foi utilizada uma planilha padrão que separa quantitativamente a ocorrência de tumores nas regiões do corpo.

As diferenças estatísticas entre as frequências de tumores das concentrações testadas e os controles (positivo e negativo) foram calculados utilizando-se o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney, empregando-se o nível de significância  $\alpha=0,05$ .

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A princípio, realizou-se um teste de verificação da toxicidade das concentrações pré-definidas do referido composto. Os resultados mostraram uma elevada taxa de mortalidade de moscas quando expostas a concentrações superiores a 25% (Gráfico 1). Diante desses dados, foram utilizadas no teste para detecção de clones em tumores epiteliais (*warts*) em *Drosophila melanogaster* concentrações inferiores a 25%.



Devido à grande mortalidade verificada no teste de toxicidade com concentrações superiores a 25%, as concentrações utilizadas para o experimento final foram redefinidas em 20%, 10% e 5%. Os resultados obtidos das análises estão representados na Tabela 1.

Os dados demonstrados na tabela 1 revelaram que as concentrações utilizadas (5%, 10% e 20%), quando comparadas ao controle negativo, não apresentaram diferenças significativas, revelando que nessas condições o gluconato de clorexidina não apresenta carcinogenicidade.

Ensaio foram realizados avaliando a genotoxicidade em *D. melanogaster*, como é o caso do trabalho Masotti *et al.* (2000) no qual houve a associação do digluconato de clorexidina (diCHL) ao etanol. Neste trabalho, foi verificado que, embora o diCHL tenha alta citotoxicidade, é desprovido de genotoxicidade, de forma direta e indireta, no entanto o uso do composto em regiões já lesionadas poderia influenciar no desenvolvimento de tumores em áreas que se encontravam no estágio inicial do processo carcinogênese.

Estudos foram realizados utilizando-se produtos comerciais com o referido composto em sua constituição. Nesse caso, tem-se o trabalho de Rodrigues *et al.* (2007), que, em um de seus testes, utilizou o Periogard®, um enxaguante bucal a base de clorexidina, o qual apresentou resultado negativo para a genotoxicidade em *Drosophila melanogaster*. Vale ressaltar que a genotoxicidade possui uma grande relação com a carcinogenicidade.

Já Siqueira (2011), em seu experimento, avaliou a citotoxicidade de alguns compostos, entre eles o digluconato de clorexidina a 2%, através do teste de viabilidade celular pelo método MTT em culturas de macrófagos peritoneais provenientes de camundongos da linhagem C57BI/6j. Os resultados mostraram que a clorexidina se comportou de maneira citotóxica, evidenciada pela morte celular.

Baseado nestas informações, o presente trabalho sugere que a ausência significativa de tumores verificada pode estar relacionada com a citotoxicidade do composto, em conformidade com os relatos encontrados no trabalho de Siqueira (2011). Considerando-se que citotoxicidade leva à morte celular sem necessariamente levar a

morte do organismo, o gluconato de clorexidina pode ter agido impedindo a mitose desordenada e, conseqüentemente, a formação significativa de tumores.

Mesmo que os resultados do presente trabalho não tenham manifestado carcinogenicidade do gluconato de clorexidina em *D. melanogaster*, seria de grande relevância o desenvolvimento de novas pesquisas que avaliassem o seu potencial modulador na expressão de tumores, diante da associação do gluconato de clorexidina com agentes indutores de tumor, como é o caso da Doxorubicina.

## 5 CONCLUSÕES

Por meio dos resultados obtidos, conclui-se que, nestas condições experimentais, o fármaco Gluconato de Clorexidina a 2% nas diluições de 5%, 10% e 20% não apresentou, significativamente, formação de tumor em *Drosophila melanogaster*.

**Tabela 1.** Frequências de clones de tumores observadas em *Drosophila melanogaster*, heterozigota para o gene supressor de tumor *Wts*, tratadas com controle positivo (DXR 0,4mM), controle negativo (água) e com diferentes concentrações de Gluconato de Clorexidina (GC) (5, 10 e 15%).

Tratamento	N. de Moscas (N)	Frequência de tumores analisados (total de tumores)													
		Olho		Cabeça		Asa		Corpo		Perna		Halter		Total	
Água	150	0,0	(0)	0,033	(5)	0,04	(7)	0,21	(32)	0,01	(2)	0,00	(0)	0,30	(46)
DXR (0,4mM)	150	0,0	(0)	0,11	(16)	0,62	(94)	0,70	(106)	0,32	(48)	0,01	(2)	1,77	(266)+
GC (5%)	150	0,0	(0)	0,087	(13)	0,01	(2)	0,18	(28)	0,006	(1)	0,00	(0)	0,29	(44)-
GC (10%)	150	0,0	(0)	0,047	(7)	0,02	(4)	0,20	(30)	0,02	(3)	0,006	(1)	0,30	(45)-
GC (20%)	150	0,0	(0)	0,04	(6)	0,03	(5)	0,14	(22)	0,013	(2)	0,00	(0)	0,23	(35)-

Diagnóstico estatístico de acordo com o Teste de Mann-Whitney Test. Nível de significância  $P \leq 0.05$

+ Valor considerado diferente do controle negativo ( $P \leq 0.05$ ).

DXR, doxorubicina.

## REFERÊNCIAS

ALVES, E. M.; NEUPOMUCENO, J. C. Avaliação do efeito anticarcinogênico do látex do avelós (*Euphorbia tirucalli*), por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila melanogaster*. **Perquirere**, v. 9, n. 2, p. 125 - 140, 2012.

AMORAS, L. S. **Uso da Clorexidina na Medicina**: revisão de literatura. 2013. 36 f. Trabalho de Conclusão do Curso (Curso de Especialização na Área De Endodontia) - Faculdade De Odontologia De Piracicaba, Universidade Estadual De Campinas - Piracicaba, SP, 2013.

BEDOR, C. N, G. **Estudo do potencial carcinogênico dos agrotóxicos empregados na fruticultura e sua implicação para a vigilância da saúde**. 2008. 115 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2008.

BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo - Patologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 1501 p.

CARRILHO, M. R.; CARVALHO, R. M.; SOUSA, E. N.; NICOLAU, J.; BRESCHI, L.; MAZZONI, A.; TJÄDERHANE, L.; TAY, F. R.; AGEE, K.; PASHLEY, D. H. Substantivity of Chlorhexidine to Human Dentin. **Dental Materials** : Official Publication of the Academy of Dental Materials, v.26, n.8, p.779–785, 2010.

DOMINGUES, P. F. **Desinfecção e desinfetantes**. Botucatu: UNESP, 2013. Material de aula: higiene zootécnica [online]. Disponível em: <http://www.fmvz.unesp.br/paulodomingues/graduacao/aula5-texto.pdf/>. Acesso em: 09 jan. de 2017.

ERCIYAS, A. F.; ERCIYAS, K.; SARIKAYA, R. Genotoxicity of two mouthwash products in the *drosophila* wing-spot test. **Food Chemical Toxicol**, v. 48, n. 10, p. 2577–2580, 2010.

HENRIQUES, A. M. A. V. **Efeito do chá verde no modelo cancro da bexiga em murganho**. 2016. 130 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Clínica Laboratorial) - Universidade De Trás-Os-Montes e Alto Douro, Portugal, 2016.

HORTA, R. S; LAVALLE, G. E. O câncer em pequenos animais. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte: FEPMVZ, n.70, p. 9-10, 2013.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER – INCA. **Estimativa 2016**: Incidência de Câncer no Brasil 2016. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/estimativa-2016-v11.pdf>. Acesso em: 29 dez. 2016.

KLUG, W. S.; CUMMINGS, M. R.; SPENCER, C. A.; PALLADINO, M. A. **Conceitos de Genética**. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 896 p.

MASOTTI, C.; MUNERATO, M. C.; REGULY, M. L.; ANDRADE, H. H. R. D. Avaliação das potencialidades genotóxicas do digluconato de clorexidine em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12, 2000, Porto Alegre. **Livro de resumos**. Porto Alegre: UFRGS, 2000.

NEPOMUCENO, J. C. Using the *Drosophila melanogaster* to Assessment Carcinogenic Agents through the test for Detection of Epithelial Tumor Clones (*Warts*). **Advanced Techniques in Biology & Medicine**, v.3, p. 1-8, 2015.

NISHIYAMA, Y.; HIROTA, T.; MORISAKI, T.; HARA, T.; MARUMOTO, T.; IIDA, S.; MAKINO, K.; YAMAMOTO, H.; HIRAOKA, T.; KITAMURA, N.; SAYA, H. A human homolog of *Drosophila* warts tumor suppressor, h-warts, localized to mitotic apparatus and specifically phosphorylated during mitosis. **FEBS Letters**, v. 459, n. 2, p.159-165, 1999.

OLIVEIRA, J. A. D. **Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos, mutagênicos, antígeno-tóxicos, antimutagênicos e anticarcinogênicos do *Lupinus albus* em camundongos *Mus musculus***. 2013. 144 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2013.

OLIVEIRA, S. N. D.; ZAHN, F. S.; DALANEZI, F. M.; ARAUJO, E. A. B. D.; SILVA, L. F. M. C.; PRESTES, N. C. Mastite necrosante em cadela: relato de caso. **Veterinária e Zootecnia**, v.22, n.3, p.380-385, 2015.

OSÓRIO, L. D. G.; XAVIER, M. O.; CABANA, A. L.; MEINERZ, A. R. M.; ALBANO, A. P. N.; MEIRELLES-LEITE, A. T.; MEIRELES, M. C. A. Desinfecção ambiental no controle de *Aspergillus spp.* no centro de recuperação de animais marinhos. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16. ENCONTRO PÓS-GRADUAÇÃO, 9, 2007, Pelotas. **Pesquisas e Responsabilidade Ambiental**. Pelotas, 2007.

PAIXÃO, F. F. **Avaliação da geotoxicidade do capsiate (*Capsicum annum*) e resveratrol suplementados em ratos wistar através do teste de micronúcleo**. 2014. 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2014.

PALONE, M. R. T. **Efeito de um dentifrício com digluconato de clorexidina a 0,12% sobre a saúde bucal durante o período pós-operatório de pacientes submetidos a cirurgia de enxerto alveolar secundário com rhBMP-2**. 2014. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Reabilitação) – Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais, Universidade de São Paulo, Bauru, 2014.

PEDRINI, S. C. B.; MARGATHO, L. F. F. Sensibilidade de microrganismos patogênicos isolados de casos de mastite clínica em bovinos frente a diferentes tipos de desinfetantes. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 4, p. 391-395, 2003.

- PEREIRA, K. C.; SANTOS, C. F. dos. Micotoxinas e seu potencial carcinogênico. **Ensaio e Ciência**, São Paulo, v. 15, n. 4, p. 147-165, 2011.
- PIEROLI, D. A. **Avaliação do potencial carcinogênico dos agentes clareadores dentais**. 1997. 119 f. Dissertação (Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru, 1997.
- ROCHA, A. A. O; ALVES, G. C. B; ORSOLIN, P. C. Efeito modulador do Roacutan®(isotretinoína) sobre a carcinogenicidade da doxorubicina, avaliado por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*. **Perquirere**, v. 12, n. 2, p. 201-212, 2015.
- RODRIGUES, F.; LEHMANN, M.; AMARAL, V. S.; REGULY, M. L.; ANDRADE, H. H. Genotoxicity of three mouthwash products, Cepacol, Periogard, and Plax, in the *Drosophila* wing-spot test. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 48, n.8, p. 644-649, 2007.
- SANTOS, E. R.; SANTOS, L. C. C.; MORES, M. C. O. M.; MEDEIROS, S. M.; CAVALCANTI, R. L. S. O uso doméstico do antisséptico em gel à base de digluconato de clorexidina. **Revista Presença**, v. 1, n. 4, p. 85-107, 2016.
- SILVA, A. E.; SERAKIDES, R.; CASSALI, G. D. Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio dependentes. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 625-633, 2004.
- SILVA, D. A. R.; COSTA, M. M.; VARGAS, A.C.; ALIEVI, M. M.; SCHOSSLER, J. E. W. O gluconato de clorexidina ou o álcool iodo-álcool na antisepsia de campos operatórios em cães. **Ciência Rural**, v. 30, n. 3, p. 431-437, 2000.
- SILVA, L. M.; NEPOMUCENO, J. C. Efeito modulador da polpa da graviola (*Annona muricata*) sobre a carcinogenicidade da mitomicina C, avaliado por meio do teste para detecção de clones de tumor (*warts*) em *Drosophila melanogaster*. **Perquirere**, v. 1, n.8, p. 80-94, 2011.
- SILVA, V. M. S.; GARCIA-NETO, M.; PERRI, S. H. V.; BECHARA, G. H. Efeito da clorexidina na cicatrização umbilical de avestruzes. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 26, n.1, p. 11- 16, 2010.
- SIQUEIRA, D. C. R. **Análise da citotoxicidade do hipoclorito de sódio a 1%, do digluconato de clorexidina a 2% e do endoquil e seus efeitos na liberação de citocinas e óxido nítrico em culturas de macrófagos murinos**. 2011. Tese (Doutorado em Endodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- STEFFENON, S. M. **Efeitos adversos do tratamento quimioterápico em cães e gatos com câncer**. 2014. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina

Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

STRACHAN, T.; READ, A. **Genética Molecular Humana**. 4. ed. São Paulo: Artmed Editora, 2016. 808 p.

XAVIER, M. O.; MEINERZ, A. R. M.; CLEFF, M. B.; OSÓRIO, L. G.; SCHUCH, L. F. D.; NOBRE, M. O.; SILVA FILHO, R. P.; MEIRELES, M. C. A. Eficácia da clorexidina-cetrimida na desinfecção ambiental contra *Aspergillus spp.* **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.873-877. 2008.

ZANATTA, F. B.; RÖSING, C. K. Clorexidina: mecanismo de ação e evidências atuais de sua eficácia no contexto do biofilme supragengival. **Scientific-A**, v.1, n.2, p.35-43, 2007.