

DANILO CHIZZOLINI MASOCATTO

**COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO TIMOL E
CARVACROL À CLOREXIDINA EM CIRURGIAS**

CAMPO GRANDE

2017

DANILO CHIZZOLINI MASOCATTO

**COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO TIMOL E
CARVACROL À CLOREXIDINA EM CIRURGIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Tulio Marcos Kalife Coelho

CAMPO GRANDE

2017

DEDICATÓRIA

Dedico primeiramente a **Deus** por estar sempre no comando.

Dedico este trabalho aos meus pais, **Otávio Cezar Masocatto, Marisa Chizzolini Masocatto** e ao meu irmão **Murilo Chizzolini Masocatto** pelo amor, apoio e confiança que sempre depositaram em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais **Otávio Cezar Masocatto**, **Marisa Chizzolini Masocatto**, ao meu irmão **Murilo Chizzolini Masocatto** por sempre ser meu braço forte, por terem me dado força e apoio durante a jornada, agradeço por sempre estarem ao meu lado torcendo para que tudo ocorra de forma natural. Devo a vocês toda a educação e caráter, vocês são os responsáveis por tudo que vem dando certo em minha vida.

Agradeço a minha namorada **Jaqueline Suemi Hassumi** por sempre ter confiado em mim, pelas longas distâncias já percorridas para me ver, pelos bons momentos juntos que já passamos e pelos muitos que ainda virão. Te amo!

Agradeço ao meu orientador **Prof. Dr. Tulio Marcos Kalife Coelho**, pelo respeito e companheirismo desde quando fui aluno de Residência e da Especialização de Implantodontia. Obrigado pela oportunidade de realizar meu sonho em me aperfeiçoar na implantodontia e de concluir o mestrado. Obrigado pelos ensinamentos, pelas orientações e pela paciência nessa fase, mostrando confiança em minha pessoa.

Agradeço a minha grande amiga **Ellen Cristina Gaetti Jardim**, pela sincera amizade, pelo imenso apoio e ensinamentos fornecidos desde a época da Residência em CTBMF até os dias atuais, jamais esquecerei meu primeiro dia de plantão como R1 que tive que acioná-la. Agradeço pelos estudos

centralizados em cirurgia ortognática, pelas aulas de inglês para passar na prova do mestrado, pelos artigos que me orientou a escrever e todo apoio durante o mestrado.

Agradeço ao **Prof. José Carlos Garcia de Mendonça** pelos longos ensinamentos teóricos e práticos durante a Residência em CTBMF e por ter nos acolhido como membro de sua família.

Agradeço ao **Prof. Dr. Júlio César Leite da Silva** pela brilhante ideia e incentivo em realizar essa pesquisa, pelas orientações e por fazer parte dessa importante fase da minha vida, por ser um professor admirável, uma pessoa que respeito muito pelo fato de realmente carregar o papel de “professor”, orientando, estimulando os alunos na sala de aula e despertando interesse pela carreira acadêmica.

Agradeço ao **Prof. Dr. Pedro Gregol da Silva** pelas aulas ministradas durante o mestrado, por ensinar, orientar e aceitar fazer parte da banca examinadora.

Agradeço aos professores da farmácia **Carlos Alexandre Carollo** e **Aline Regina Carollo** e às professoras da microbiologia **Maria Carolina Silva Marques** e **Sonia Maria Fernandes** pela orientação, disposição e por terem disponibilizados os laboratórios de farmácia e microbiologia.

Agradeço a **Francielly Thomas Figueiredo** e **Marina Gasparin Nogueira** por toda ajuda e esforço. Muito obrigado.

Agradeço aos meus avós **José Chizzolini** (*in memoriam*) e **Maria Terezinha Garcia Chizzolini**, a minha tia **Denise Chizzolini** e aos primos **Bianca Chizzolini** e **Bruno Chizzolini** pelo amor que sempre demonstram por mim, por sempre semearem palavras positivas e de incentivo.

Agradeço a todos os meus **tios e tias por parte paterna**, que de forma direta ou indireta me auxiliaram na formação acadêmica e serviram de incentivo para chegar aonde cheguei.

Agradeço aos meus **avós paternos** (*in memoriam*) que foram os pilares fortes onde me apoiei e me sinto forte até os dias atuais.

Agradeço ao meu sogro **Mitsuyuki Hassumi** e minha sogra **Suely Harumi Hino Hassumi** por representarem minha segunda família.

Agradeço ao **9º Grupo de Artilharia de Campanha** (GAC) de Nioaque/MS, em especial ao **Coronel Couto** e ao **Coronel Cícero** por serem tão solícitos, incentivarem sempre o estudo e me liberarem para dar continuidade ao mestrado.

“O verdadeiro **líder** é aquele que consegue influenciar fortemente outras pessoas à ação, sem o uso da força ou do medo. Tem sua base na atitude pessoal, na competência e no carisma, levando os demais a admirar, respeitar e defender o **líder** e suas ideias”.

Agradeço a todos os integrantes da **Seção de Saúde** do Quartel de Nioaque (9º GAC) pela oportunidade de trabalhar com toda equipe, em especial a **Rafaela Dallberto, Nanderson da Silva, Pedro Bonella e João Vitor Uzelotto** pela amizade e companheirismo.

Agradeço a todos os funcionários da **FAODO** pela ajuda e respeito durante esses anos de convivência.

Agradeço aos **colegas e amigos** do mestrado, foi ótimo conhecer e fazer parte dessa turma, muito obrigado pela ajuda.

Agradeço aos **professores** do programa de **pós-graduação** em odontologia pelos ensinamentos, em especial o Professor **Paulo Zárate** por ser um incentivador do conhecimento e de personalidade ímpar.

EPÍGRAFE

*“Cada pessoa é aquilo que crê,
Fala do que gosta, retém o que
Procura, ensina o que aprende;
Tem o que dá e vale o que faz.”*

(Chico Xavier)

RESUMO

Masocatto DC. Comparação da atividade antimicrobiana do timol e carvacrol à clorexidina em cirurgias. Campo Grande; 2017. [Dissertação – Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul].

Introdução: Atualmente há uma incessante busca por novos compostos químicos através dos extratos vegetais e compostos fitoquímicos que não gerem tantos efeitos colaterais na cavidade oral e que possuem boas propriedades antimicrobianas. **Objetivo:** avaliar a eficácia sinérgica antimicrobiana de soluções de bochecho contendo timol e carvacrol e compará-los com bochechos de clorexidina 0,12% após a exodontia de terceiros molares inferiores simétricos. **Métodos:** Participaram desse estudo dezenove (n=19) indivíduos saudáveis com idades entre 18 e 30 anos, de ambos os sexos, atendidos na Faculdade de Odontologia do Mato Grosso do Sul (UFMS). Todos os pacientes foram submetidos a dois tratamentos terapêuticos diferentes, divididos em dois grupos: grupo 1 (controle) – o participante fez bochecho de clorexidina 0,12%; grupo 2 (experimental) – o participante fez bochecho com uma solução de timol 0,05% e carvacrol 0,025%. A sutura foi removida no pós-operatório de 7 dias e transferida assepticamente para um tubo contendo solução salina estéril de tampão de potássio. As amostras foram enviadas ao Laboratório de Microbiologia da UFMS, para análise microbiológica. **Resultado:** a média e o desvio-padrão de Unidades Formadoras de Colônias/ml de microrganismos isolados dos fios de sutura que cresceram em Agar BHI obtido do grupo controle foi de $4,766 \times 10^6 \pm 4,069$ enquanto o grupo experimental foi $4,847 \times 10^6 \pm 3,971$. **Conclusão:** O colutório a base de timol e carvacrol é eficaz na atividade antimicrobiana na aderência do biofilme em fios de seda após a exodontia de terceiros molares inferiores.

Palavras-chave: Cirurgia bucal. Antissépticos bucais. Compostos fitoquímicos.

ABSTRACT

Masocatto DC. Comparison of antimicrobial activity of thymol and carvacrol with chlorhexidine in surgeries. Campo Grande; 2017. [Dissertation – Faculty of Dentistry, Federal University of Mato Grosso do Sul].

Introduction: There is an ongoing search for new chemical compounds through plant extracts and phytochemical compounds that do not generate as many side effects in the oral cavity and which have good antimicrobial properties.

Objective: to evaluate the synergistic antimicrobial efficacy of chelating solutions containing thymol and carvacrol and to compare them with chlorhexidine mouthwash 0.12% after the extraction of symmetrical lower third molars.

Methods: Nineteen (n=19) healthy individuals aged 18 to 30 years old, of both sexes, attending the Faculdade de Odontologia do Mato Grosso do Sul (UFMS) participated in this study. All patients were submitted to two different therapeutic treatments, divided into two groups: group 1 (control) - the participant had a chlorhexidine mouthwash 0.12%; group 2 (experimental) - the participant made a mouthwash with 0.05% thymol solution and 0.025% carvacrol solution. The suture was removed postoperatively for 7 days and transferred aseptically to a tube containing sterile saline of potassium buffer. The samples were sent to the Laboratory of Microbiology of the UFMS, for microbiological analysis. **Results:** Mean and standard deviation of Colony Forming Units / ml of microorganisms isolated from suture yarns grown in BHI Agar obtained from the control group was $4,766 \times 10^6 \pm 4,069$ while the experimental group was $4.847 \times 10^6 \pm 3.971$. **Conclusion:** The thymol-based and carvacrol-based mouthwash is effective in the antimicrobial activity in the adherence of the biofilm in silkwires after the extraction of third molar teeth.

Keywords: Oral surgery. Oral antiseptics. Phytochemical compounds.

LISTA DE TABELA

Tabela 1: Média e desvio-padrão das Unidades Formadoras de Colônias (UFC/ml) de microrganismos isolados dos fios de sutura que cresceram em Agar BHI obtido do grupo controle (Clorexidina 0,12%) e o grupo que usou extrato de timol e carvacrol.....	43
--	----

LISTA DE FIGURA

Figura 1 – Média e desvio-padrão das UFC/m de microrganismos isolados dos fios de sutura que cresceram em Agar BHI obtido do grupo controle e o grupo que usou extrato de timo e carvacrol 43

LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

LPS - Lipopolissacarídeos

ATP – Adenosina Trifosfato

® - Marca Registrada

mg – miligramas

ml – mililitro

G – Gauge

1:100.000 – Um para cem mil

mg/kg – Miligramas por kilograma

3/8 – Três oitavos

mm – Milímetros

UFC/ml - Unidade Formadora de Colônia por mililitros

$\times 10^6$ – Vezes dez elevado a seis

10^{-1} – Dez elevado a menos um

BHI – Brain Heart Infusion

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	21
3. OBJETIVOS	34
3.1. OBJETIVO GERAL	35
3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO	34
4. MATERIAIS E MÉTODO	36
4.1. ASPECTOS ÉTICOS	37
4.2. PARTICIPANTES DA PESQUISA	37
4.3. DELINEAMENTO	38
4.4. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS	40
4.5. ORIENTAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS	41
4.6. REMOÇÃO DAS SUTURAS	41
4.7. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	42
4.8. ANÁLISE DOS RESULTADOS	42
5. RESULTADOS	43
6. DISCUSSÃO	46
7. CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	52
APÊNDICES	62
ANEXOS	72

1- INTRODUÇÃO

Atualmente a remoção cirúrgica dos terceiros molares é um dos procedimentos cirúrgicos mais frequentes nas clínicas odontológicas. Assim que realizada a exodontia, é de extrema importância o reposicionamento dos tecidos moles descolados por meio de fios de sutura. Essa medida tem como funções a manutenção do retalho em posição; coaptar as margens das feridas cirúrgicas, estimulando a cicatrização por primeira intenção; evitar ao máximo o número de infecções, devido à penetração de alimentos ou corpo estranho no alvéolo; manter a integridade do osso subjacente ao tecido mole; promover a manutenção do coágulo no alvéolo (BATISTA et al., 2002).

Através das suturas algumas complicações tais como dor pós-operatória, sangramento persistente, edema e trismo decorrentes do procedimento podem ser minimizadas. Por outro lado, elas podem representar um risco à cicatrização por facilitarem a aderência de microrganismos patogênicos, tornando-se foco de infecções odontogênicas (LISBOA et al., 2006).

Os fios de sutura de seda, algodão e náilon são os fios mais utilizados em cirurgias intra-orais (SANTOS e MACHADO, 2001). Seda e algodão são muito utilizados em cirurgia oral por serem de fácil uso, não desatarem o nó facilmente (baixa memória), por sua baixa resistência tênsil, serem de baixo custo e suas extremidades não causarem ferimentos e ulcerações nos tecidos adjacentes (língua, bochechas e lábios) quando expostos após serem cortados com tesouras (QIN et al., 2010).

É inevitável a aderência e colonização de microrganismos da cavidade oral na superfície do fio de sutura. A multiplicação desses microrganismos podem representar um foco de infecção e interferir no processo de cicatrização. Dessa forma medidas para amenizar a colonização e o crescimento dos mesmos no fio de sutura são de grande importância para auxiliar na regeneração dos tecidos e evitar possíveis complicações (BATISTA et al., 2002).

Um dos métodos de adequação do meio bucal e diminuição da microbiota é a utilização de enxaguatórios orais. A clorexidina tem 30 anos de história na odontologia, é a solução mais utilizada e também a mais pesquisada. Possui ação antibiofilme e antigengivite, por isso é considerado padrão-ouro em pesquisa. O bochecho com clorexidina 0,12% tem o poder de redução imediata de microrganismos em cerca de 90%, seu efeito pode permanecer de 30 segundos a 1 hora após o bochecho, possuindo também efeito residual de até 7h (HERRERA et al., 2003; CATALÁN et al., 2008; COUSIDO et al., 2010). Apesar dos efeitos benéficos da clorexidina, esta possui uma grande desvantagem que é a coloração dos dentes, alterações gustativas, gosto metálico na boca e alto custo, tais desvantagens limitam o seu uso e tem servido de incentivo para a pesquisa de soluções substitutas sem os efeitos colaterais e preços mais acessíveis (LÖE e SCHIÖTT, 1970; KOCAT et al., 2009).

Assim, aumenta-se a busca por novos compostos químicos, que não gerem tantos efeitos colaterais como, por exemplo, o uso de extratos vegetais e compostos fitoquímicos - compostos de natureza química, produzidos por vegetais, os quais possuem boas propriedades antimicrobianas associadas a mínimos efeitos colaterais. Com isso, os fitoterápicos tem sido alvo de pesquisas e sugeridos como veículos de prevenção e controle de doenças bucais infecciosas, uma vez que seu mecanismo de ação antimicrobiano consiste no comprometimento da integridade da membrana celular com perda de material intracelular e inibição da respiração (KWIECINSKI et al., 2009).

O crescimento mundial da fitoterapia – “estudo das plantas medicinais e suas aplicações na cura das doenças” (Ministério da Educação) dentro de programas preventivos e curativos tem estimulado a avaliação da atividade de diferentes extratos de plantas para o controle do biofilme dentário. Alguns trabalhos (GIRÃO et al., 2003; NUNES et al., 2005) tem mostrado, o biofilme dentário como fator determinante para o crescimento da cárie dentária, doenças periodontais e infecções pós-operatórias (NAVARRO et al., 1996).

Os óleos essenciais são produtos naturais, obtidos por extração de plantas, ricas em "essências" pertencentes às chamadas ervas "aromáticas" e plantas medicinais. Uma vez extraídos, apresentam substâncias oleosas, líquidos, voláteis e fragrância, de acordo com a planta que eles originam. É uma composição muito complexa de substâncias que representam a parte mais nobre da planta, presente sob a forma de pequenas gotas nas pétalas de flores, casca de fruta, resina, casca da árvore, raízes das ervas e plantas aromáticas. Eles têm sido usados em medicina e cosméticos, em especial na dermatologia e odontologia, entre eles, são citados o eugenol, carvacrol e timol (FREIRES et al., 2015).

Dentre os milhares de compostos que podem estar presentes na composição dos óleos essenciais, o timol e o carvacrol se destacam devido suas pronunciadas atividades antimicrobianas. Eles são os constituintes principais dos óleos essenciais de várias plantas aromáticas, tais como *Thymus vulgaris*, *Origanum compactum*, *Acalypha phleoides* e *Lippia sidoides* (família *Verbenaceae*). As características destes compostos, como por exemplo, a baixa toxicidade, solubilidade, a facilidade de obtenção e o baixo custo, são os principais fatores responsáveis pelo destaque dado a esses monoterpenos aromáticos. (PEIXOTO-NEVES et al., 2010).

Lippia sidoides é uma erva medicinal que tem sido usado na medicina tradicional para uma variedade de propósitos antifúngicos e antimicrobianos. Este é um arbusto típico do nordeste brasileiro, onde é popularmente conhecido como "alecrim-pimenta" e está disponível a baixo custo. Os dados bioquímicos mostraram que os óleos e os extratos de *L. sidoides* são ricos em timol e carvacrol, que são compostos conhecidos por suas propriedades antimicrobianas. Estudos anteriores indicaram que um enxaguatório bucal a base desse extrato reduziu a inflamação gengival, placa bacteriana em seres humanos e infiltrado inflamatório histológico em cães (MATOS, 2002).

Os dois constituintes principais dos óleos essenciais de *L. sidoides* são timol (50-59%) e carvacrol (7-16%). Compostos fenólicos como o carvacrol

e o timol têm seu amplo espectro de ação antimicrobiana contra leveduras e bactérias estabelecidas, sendo também constituintes de outros óleos essenciais (BOTELHO et al., 2007).

2-REVISÃO DE LITERATURA

2- REVISÃO DE LITERATURA

O biofilme dental consiste em microrganismos, células epiteliais escamosas, restos alimentares e macromoléculas sintetizadas por bactérias que proliferam, aderem ao filme adquirido ou diretamente na superfície do dente. Várias categorias de agentes químicos foram utilizadas no controle químico do biofilme dental por meio de estratégias para reduzir a adesão bacteriana, inibir o crescimento e proliferação de microrganismos na superfície do dente e inibir a formação de matriz intercelular de biofilme, a modificação da atividade bioquímica e ecologia por uma microbiota menos patogênica (GEBARA et al., 1996).

Os patógenos associados a doenças periodontais são suscetíveis a uma variedade de antissépticos e antibióticos. A terapia periodontal não cirúrgica, associada à higiene bucal doméstica adequada, foi documentada para preservar a dentição natural ao conseguir e manter um periodonto saudável. De acordo com a atualidade, espécies como os organismos complexos vermelhos (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*), são apenas alguns desses agentes patogênicos que demonstraram desempenhar um papel importante na patogênese das doenças periodontais (GREENSTEIN, 2000).

Um grande número de estudos avaliaram as propriedades antimicrobianas das substâncias associadas à prevenção e ao controle do biofilme e da cárie. Algumas dessas substâncias, como a clorexidina, foram frequentemente relatadas na literatura científica, enquanto outras foram pouco exploradas, como é o caso dos extratos vegetais (KOHLERT et al., 2000).

A clorexidina é uma das substâncias mais eficazes e mais seguras, uma vez que é fortemente absorvida pela superfície oral e é gradualmente liberada nos locais de ação, potencialmente reduzindo o crescimento e metabolismo do biofilme dental. Ela atua na desorganização geral da membrana celular e na inibição específica das enzimas da membrana. Inibe a absorção de glicose por *Streptococcus mutans*. Embora seja um excelente antimicrobiano, seus efeitos colaterais não recomendam seu uso prolongado. Assim, existe a necessidade de desenvolver substâncias igualmente eficazes,

mas sem efeitos colaterais, que incluem: coloração dentária, descamação do epitélio oral, alterações gustativas e depósitos supragengivais calcificados aumentados (COUSIDO et al., 2010).

De acordo com Alves et al. (2012) as moléculas de clorexidina são adsorvidas à superfície do esmalte, inibindo a adesão bacteriana. A clorexidina é também conhecida por ser bacteriostática contra a maioria das bactérias orais. Num modelo de biofilme supragengival, mostrou-se que ela inibe o crescimento de bactérias e formação de biofilme. Quando usada em altas concentrações, é bactericida e age como um detergente danificando a membrana celular bacteriana.

Faria et al. (2011) compararam o efeito antimicrobiano de bochechos contendo *Calendula officinalis* L., *Camellia sinensis* (L) Kuntze e clorexidina 0,12% na aderência de microrganismos no fio de sutura após extração de terceiros molares superiores retidos. Dezoito pacientes foram selecionados para extrair os sisos do lado esquerdo sem o uso de nenhum enxaguatório no pós-operatório. Após 15 dias o lado direito foi extraído e o participante foi orientado a bochechar uma das três substâncias testadas. Concluíram que tanto a *Calendula officinalis* L. quanto a *Camellia sinensis* (L) Kuntze apresentam atividade antimicrobiana contra a aderência de microrganismos nos fios de sutura, mas não foram tão eficientes quanto à clorexidina.

Nogueira et al. (2013) compararam a eficácia dos enxaguatórios bucais: clorexidina 0,12%, Listerine (timol, mentol, eucalipitol e metilsalicilato) e óleo de *Melaleuca Alternifolia* 0,5% e 2% sobre os níveis salivares de *Streptococcus mutans* e microrganismos totais. O estudo foi um ensaio clínico, controlado, duplo cego e emparelhado. Para tanto foram selecionados 26 voluntários com idade entre 21 - 35 anos. Foi coletada de cada participante a quantidade de 1 mL de saliva não estimulada, a qual foi considerada como baseline, após 1 e 15 min foram realizados os bochechos com as seguintes soluções: água destilada estéril, digluconato de clorexidina 0,12%, Listerine (©Johnson & Johnson do Brasil), *Melaleuca Alternifolia* (Sigma-Aldrich St Louis, MO, USA) nas concentrações de 0,5% e 2%. Os participantes fizeram uso de todos os enxaguatórios bucais pesquisados, com intervalo de 15 dias entre

cada solução. Imediatamente após o bochecho, foi coletada a saliva e realizadas as diluições seriadas, seguidas de plaqueamento em meio de cultura Agar sangue para o crescimento de microrganismos totais e SB- 20 (Agar Sacarose Bacitracina) para *S. mutans*, mantidos por 48h a 37°C em microaerofilia. O bochecho único com clorexidina 0,12% foi eficaz na redução de níveis de microrganismos totais e *S. mutans* presentes na saliva. Ao comparar a clorexidina com o listerine e óleo *Melaleuca Alternifolia* 0,5% e 2% nas mesmas condições a eficácia da ação destas soluções é diminuída.

Produtos naturais utilizados em odontologia, de acordo com Moreira et al. (2001) apresentam boas perspectivas para o mercado devido à aceitação popular da fitoterapia e podem ser introduzidas, uma vez que foram cuidadosamente apoiadas por estudos laboratoriais e clínicos específicos. Várias substâncias foram utilizadas como agentes antissépticos em medicina popular. Esses estudos também demonstraram as ações de uma série de produtos químicos, agentes biológicos e substâncias naturais antiplaca e anticárie que atuam principalmente na formação de polissacarídeos extracelulares.

Couto et al. (2000) verificaram a compatibilidade biológica do extrato hidroalcoólico de *Lippia sidoides Cham.* com tecido subcutâneo de camundongos. No final das experiências, o extrato mostrou-se bem tolerado pelo tecido subcutâneo de animais. O extrato também teve seus efeitos comprovados na redução da presença de gengivite marginal em cães e sua eficácia no biofilme dental já foi avaliada em seres humanos.

Os compostos fenólicos como o timol e o carvacrol tiveram sua ação antimicrobiana de amplo espectro contra leveduras e bactérias estabelecidas, sendo também constituintes de outros óleos essenciais. Sua estrutura desintegra a membrana externa de bactérias gram-negativas, liberando lipopolissacarídeos (LPS) e aumentando a permeabilidade da membrana citoplasmática ao ATP (LAMBERT et al., 2001).

As atividades antimicrobianas dos compostos timol e carvacrol também estão associadas aos seus grupos funcionais. Os estudos de Ultee et

al. (2002) com bactérias *B. cereus*, mostraram que o efeito antibacteriano do timol e do carvacrol é devido a grande parte, ao seu grupo hidroxila, o qual funciona como um transportador transmembranar de cátions monovalentes, responsáveis pelo crescimento das células.

O efeito antimicrobiano do óleo essencial de *L. origanoides* foi testado contra o *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isolado do queijo artesanal de Minas produzido no Brasil. Os resultados mostraram atividades bactericidas, sugerindo a possibilidade de seu uso como um agente antibacteriano alternativo. Quando esse óleo é incorporado em formulações do tipo creme dental ou colutórios, reduz o crescimento do biofilme dentário em humanos (GIRÃO et al., 2003).

Atualmente, atenção especial é dada ao estudo científico dos fitoterápicos, buscando-se recursos disponíveis, renováveis, o que permitiria uma atividade sustentável. Numa indústria farmacêutica que produz medicamentos fitoterápicos, as drogas vegetais constituem o principal grupo de matéria prima, e é, portanto a ela que se deve concentrar-se toda a atenção possível, uma vez que a padronização farmacobotânica, verificação da pureza, qualidade química dos vegetais, associada a uma adequada técnica de extração dos seus princípios ativos, são consideradas etapas imprescindíveis para a produção racional destes fitoterápicos (BABY et al., 2005).

A *Lippia sidoides* é um arbusto típico comumente encontrado no Nordeste brasileiro, popularmente usado como antisséptico tópico de pele e da mucosa oral. O seu óleo essencial também tem propriedades anti-inflamatória, antioxidantes e gastroprotectoras. Sua atividade antimicrobiana contra bactérias cariogênicas tem sido correlacionada com a presença dos monoterpenos fenólicos timol e carvacrol, e podem ser consideradas as plantas medicinais mais exploradas cientificamente no Brasil, cujos estudos têm atingido a fase clínica. De acordo com esta revisão, o óleo essencial mostrou fortes atividades antibacterianas *in vitro* e eficácia clínica como enxaguatório bucal, sendo assim considerado um promissor agente antiplaca e anti gengivite (LAUTEN et al., 2005).

Nunes et al. (2005) com o objetivo de padronizar a matéria-prima e o extrato de vegetal *Lippia sidoides Cham*, bem como determinar sua atividade antimicrobiana, realizaram ensaios de resíduo seco, pH, teor de timol e atividade antimicrobiana. Diante deste estudo, concluíram que a matéria-prima e o extrato podem ser usados na produção de formulações de uso odontológico, pois a mesma foi padronizada e possui atividade antimicrobiana frente ao *streptococcus mutans*, um dos principais agentes etiológicos da cárie dentária. Quando estes extratos são incorporados, na forma de tintura, em formulações do tipo creme dental ou colutório, reduzem o crescimento de placa bacteriana em humanos.

Os óleos essenciais de *L. sidoides* e um multi-ervas incluindo os óleos de *Melaleuca alternifolia* e *Leptospermum* (combinados com extratos de *Calêndula officinalis* e *Camellia sinensis*), foram testados em seres humanos para avaliar sua efetividade em reduzir a quantidade de biofilme cariogênico, medido por meio de índices de placa. O período experimental de estudos variou de 1 a 12 semanas, com diferentes pontos de verificação de avaliação e dosagem. Conforme observado, apenas os indivíduos tratados com colutório bucal com 1% de óleo essencial de *L. sidoides* tiveram redução estatisticamente significativa em seus níveis de biofilme supragingival em comparação com o grupo de clorexidina (LAUTEN et al., 2005).

Ben Arfa et al. (2006) ao analisarem a relação entre a estrutura química e a capacidade antimicrobiana do carvacrol e de seus dois derivados, em que a presença do grupo OH livre se mostrou fundamental para a atividade antibacteriana do composto, visto que os compostos sintetizados não foram eficazes como agentes antibacterianos para os microrganismos testados.

No mesmo ano, estudos realizados por Veldhuizen et al. (2006) tendo como base a remoção e substituição do grupo hidroxila (OH) da estrutura do carvacrol, inferiram que este grupo não é essencial para a sua atividade antibacteriana, mas possui características especiais que favorecem a sua ação. Ao remover o grupo hidroxila da molécula de carvacrol originando o p-cimeno, os autores observaram que este perdeu totalmente a sua capacidade antibacteriana, provavelmente devido a possível perda da solubilidade.

Devido a grande importância destes compostos, um grande número de artigos que avaliam os seus mecanismos de ação utilizando diversas técnicas e metodologias têm sido publicadas. Nota-se um maior número de estudos, relacionados à atividade antimicrobiana destes constituintes, uma vez que há uma maior preocupação com os possíveis danos à saúde e a resistência em que os microrganismos estão apresentando aos fármacos tradicionalmente utilizados. Os estudos mostram que o principal mecanismo de ação antimicrobiano destes compostos se deve aos efeitos prejudiciais a membrana celular dos microrganismos (AHMAD et al., 2011).

Com o propósito de avaliar se realmente a atividade antibacteriana do carvacrol estava relacionada com a sua capacidade de alterar a membrana externa, La Storia et al. (2011) realizaram análises de microscopia de força atômica da membrana externa de diferentes espécies bacterianas, todas tratadas com carvacrol. Perante este estudo, foi possível comprovar que este composto realmente afeta a membrana externa das bactérias, visto que as imagens de todas as linhagens de células tratadas exibiram alterações significativas na estrutura de sua superfície celular, seguidas da diminuição de seus comprimentos e diâmetros.

Lacoste et al. (2006) estudou as propriedades antibacterianas e antifúngicas de *Lippia sidoides Cham.* sobre a microflora cutânea e observou que seus principais princípios ativos (thymol e carvacrol) tornam fortemente antisséptico.

Oliveira et al. (2006) avaliaram a eficácia do óleo essencial de *Lippia sidoides Cham.* inibindo o crescimento de cepas de *Staphylococcus aureus* com diferentes perfis de resistência a antibióticos e isolados de material clínico. Os resultados mostraram uma atividade proeminente anti-*Staphylococcus aureus* por óleos essenciais de *Lippia sidoides*, evidenciados por grandes halos que inibiram o crescimento bacteriano, apoiando a possibilidade de seu uso racional como agente antimicrobiano alternativo.

Já Nunes et al. (2006) avaliaram os efeitos de preparações odontológicas, creme dental e colutório, à base do extrato hidroalcoólico de *Lippia sidoides Cham* como coadjuvante da higiene bucal no controle do biofilme dentário em 84 voluntários humanos, divididos em 4 grupos de 21 elementos, sendo eles os grupos teste 2 e 3 e os grupos controle 1 e 4, avaliados nos tempos 0, 7, 15, 21 e 28 dias. Os resultados demonstraram que o creme dental e o colutório, rico em timol a 1% (grupos 2 e 3 respectivamente), após um período de 28 dias, apresentaram resultados semelhantes entre si e foram superiores aos produtos utilizados como controle (creme dental de uso diário e solução de cloreto de cetilpiridíneo), mostrando serem eficientes como coadjuvante no controle do biofilme dentário, pois reduziram de forma estatisticamente significativa o índice de biofilme dentário.

A *Lippia sidoides* é amplamente utilizada em um projeto social de assistência farmacêutica intitulada "Farmácias vivas", que usa fitoterapia, especialmente plantas locais, que são baratas e muito eficazes, para ajudar as pessoas das comunidades carentes. Esta planta é usada principalmente como antisséptica devido à sua forte ação em um grande número de micro-organismos. Para avaliar o espectro de ação desta planta, estudos farmacológicos foram realizados e indicaram que esta não apresentou toxicidade nas concentrações estudadas e foi mostrada como gastroprotectora e agente antiinflamatório (MONTEIRO et al., 2007).

Botelho et al. (2007), avaliaram a eficácia de um enxaguatório bucal de óleo essencial de *Lippia sidoides* sobre a inflamação gengival e placa bacteriana. Cinquenta e cinco pacientes (de 17 a 63 anos de idade) foram selecionados em um estudo piloto, duplo cego, randomizado. Os participantes eram atribuídos aleatoriamente para se submeter a um regime de tratamento de 7 dias com o enxaguatório bucal baseado em *L. sidoides* a 1 % ou clorexidina a 0,12%. Os participantes foram convidados a bochechar 15 ml do enxaguatório por 30 segundos, duas vezes ao dia durante 7 dias. Os resultados demonstraram diminuição do índice de placa, índice gengival e sangramento gengival no sétimo dia, mas não houve diferença estatística entre grupo teste e o controle para qualquer um dos parâmetros clínicos avaliados ao

longo do estudo. As conclusões deste estudo demonstraram que o bochecho baseado em *L. sidoides* é seguro e eficaz na redução da placa bacteriana e inflamação gengival.

A atividade antibacteriana que os óleos essenciais apresentam pode ter relação com apenas um dos seus principais constituintes químicos como já foi descrito anteriormente, porém estudos demonstram que esta atividade não depende apenas dos seus principais constituintes ativos, mas também das interações entre eles. Alguns testes realizados por Michiels *et al.* (2007) relataram atividades antimicrobianas sinérgicas da combinação carvacrol e timol quando testados em simulações de fermentação *in vitro* no tubo digestivo dos suínos. Os resultados demonstraram que a combinação carvacrol e timol possui um maior efeito antibacteriano que a soma dos efeitos de cada agente separado contra *E. coli* e *Lactobacillus spp.*

Já Botelho *et al.* (2008) investigaram o efeito de um gel tópico composto de carvacrol e *chalcones diméricos* (substâncias extraídas do caule de plantas que apresentam propriedades antimicrobianas) na doença experimental periodontal (EPD) em ratos. Os animais foram tratados com gel carvacrol e/ou *chalcones*, imediatamente após a indução de EPD, três vezes ao dia durante 11 dias. A flora bacteriana foi avaliada através da cultura do tecido gengival. O tratamento com o gel combinado reduziu a lesão tecidual na histopatologia e inibiu o crescimento de micro-organismos orais.

Rodrigues *et al.* (2009) avaliaram o efeito anti-placa e antigingivite da *Lippia sidoides* (LS) *in vivo*. Vinte e três indivíduos participaram de um estudo clínico cruzado, duplo-cego, utilizando um modelo experimental que induz a gengivite. Foi construído uma barreira dentária para cada voluntário, evitando a escovação dos 4 dentes posteriores experimentais no quadrante inferior esquerdo. Os participantes foram aleatoriamente designados inicialmente para usar o gel placebo (grupo controle) ou o gel teste contendo 10% de LS (grupo de teste). Os resultados clínicos mostraram diferenças estatisticamente significativas para o índice de placa entre os dias 0 e 21 em ambos os grupos, no entanto, apenas o grupo controle apresentou diferença estatisticamente significativa para o índice de sangramento e gengival. No dia

21, o grupo teste apresentou resultados significativamente melhores que o grupo controle em relação ao índice gengival ($p < 0,05$). O gel de teste contendo 10% de LS foi eficaz no controle da gengivite.

Esses compostos por possuírem bons perfis toxicológicos e pouca irritação cutânea, em baixas concentrações, estão sendo preferidos em relação aos materiais sintéticos, utilizados tradicionalmente como promotores da absorção percutânea de formulações de diferentes drogas e para o tratamento de câncer. Sendo capazes de facilitar a permeação de fármacos hidrofílicos e lipofílicos, devido ao aumento da permeabilidade da membrana que esses oferecem ultrapassando assim a barreira do estrato córneo e por possuírem propriedades relacionadas à proteção aos danos causados ao DNA de células tumorísticas (ARISTATILE et al., 2010).

Atualmente, a formulação mais popular baseada em óleos essenciais usada nos cuidados dentários na sociedade ocidental é composta por uma combinação fixa de quatro ingredientes ativos derivados: timol (0,064%), eucaliptol (0,092%), salicilato de metilo (0,060%) e mentol (0,042%). É considerada efetiva contra bactérias cariogênicas e relativamente seguras, embora sua fórmula alcoólica de 21 a 27% usado para manter os constituintes em solução ainda é controversa. Em alguns casos, como com *A. ligustica*, *C. japonica* e *C. sativum*, o sinergismo dos compostos é fundamental para as suas propriedades biológicas como opostas aos seus constituintes isolados. Essa complexidade química pode favorecer solubilidade em veículos diferentes de etanol (por exemplo, propileno glicol), com menor probabilidade de efeitos adversos (GARCÍA-GARCÍA et al., 2011).

Outros estudos também avaliaram o efeito antimicrobiano e atividade antisséptica do óleo essencial de *L. origanoides* em 25 cepas de bactérias (*Staphylococcus coagulase* - negativo, *Staphylococcus coagulase* - positivo, *Streptococcus* positivo para esculina, *Streptococcus* negativo para esculina e *Mannheimia Haemolytica*) isoladas de ovelhas com mastite na região norte de Minas Gerais. A atividade antimicrobiana do mesmo extrato também foi testada em isolados de *S. aureus* e a inibição do crescimento microbiano também foi constatada (CASTRO et al., 2011).

Anderson et al. (2012) afirmaram que o timol e o carvacrol também estão sendo descritos como vantajosos no controle de pragas, não apenas de insetos, mas também de artrópodes, em que o principal modo de ação está relacionado com a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE). Os dados relatados também sugerem um bom potencial terapêutico para estes monoterpenos, apresentando significativa atividade ansiolítica e antidepressiva, relacionadas com a capacidade que estes apresentam em modular os receptores GABAérgicos.

Os efeitos benéficos do timol e do carvacrol também estão associados ao tratamento de condições dolorosas, como as inflamações, em que foram demonstrados que os compostos são vantajosos em estimular a liberação de citocinas anti-inflamatórias, que suprimem a ativação dos mediadores inflamatórios das células do sistema imunológico, além de modular as vias centrais que controlam a dor, a de óxido nítrico (GUIMARÃES et al., 2012).

Em caso de eventual administração oral de um enxaguatório bucal, por exemplo, a maioria dos compostos como: mentol, timol, carvacrol e eugenol seriam excretados através dos rins ou exalados através dos pulmões, e seu rápido metabolismo e a meia-vida curta destacam um risco mínimo de acumulação no organismo. Contudo, embora esses compostos tenham a vantagem de serem geralmente desprovidos de riscos de citotoxicidade e genotoxicidade em longo prazo, a alta volatilidade e instabilidade química de alguns dos seus compostos na presença de calor, umidade, luz ou oxigênio, podem afetar negativamente seu uso clínico (TUREK et al., 2013).

Albuquerque et al. (2013) avaliaram a atividade antiaderente da folha da *Lippia sidoides* Cham. rica em timol e carvacrol, comparando seus resultados com a Clorexidina 0,12%, através de uma simulação, *in vitro*, do biofilme dental. As linhagens bacterianas utilizadas na pesquisa foram o *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, e o *Lactobacillus casaram*, principais responsáveis pela aderência do biofilme. A leitura foi baseada na observação visual da aderência bacteriana após a agitação do tubo. O extrato

da *Lippia sidoides* demonstrou efeito antiaderente sobre os principais microrganismos responsáveis pela consolidação do biofilme dental. Mas a comparação dos dados obtidos indica que, neste experimento, os dados do extrato analisados apresentaram resultados inferiores aos da clorexidina, comprometendo a ação anti-aderência.

Lobo et al. (2014) avaliaram a eficácia de três formulações de óleo essencial da *Lippia sidoides* Cham. (LSO) na produção de *Streptococcus mutans* salivar em crianças com cárie. Selecionaram 81 voluntários com cáries, com 6 a 12 anos, de ambos os gêneros. Cada grupo recebeu tratamento tópico com pasta de dente LSO de 1,4%, gel LSO a 1,4%, solução bucal de LSO a 0,8%, gel de clorexidina a 1% ou cloreto de clorexidina a 0,12%. O bochecho e o gel foram aplicados pelos professores da clínica de pediatria, a escovação foi realizada pelos pais 1 vez ao dia em casa durante 1 minuto durante 5 dias. Concluíram que a pasta de dente LSO demonstrou ser mais duradoura e eficaz na redução de *Streptococcus mutans*, enquanto que outras formulações de LSO não reduziram efetivamente os níveis bacterianos em crianças com cárie dentária.

Segundo Bilia et al. (2014) a maneira mais efetiva de usar a maioria dos óleos essenciais é por aplicação externa, como os enxagatários bucais para cuidados dentários. A aplicação tópica geralmente é segura porque a maioria dos compostos é considerada como seguros pela *Food and Drug Administration* (FDA) e tem sido usado há muito tempo na preparação de alimentos em várias culturas.

Já Oliveira e Mikcha (2015) avaliaram a atividade sinérgica entre timol e carvacrol sobre *Salmonella typhimurium* e *Staphylococcus aureus* através da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) utilizando o método de micro diluição em caldo, *checkerboard* e ensaios de curva do tempo de morte. Os resultados obtidos mostraram que, timol e carvacrol possuem atividade antimicrobiana e potencial sinérgico nas concentrações testadas e podem ser uma alternativa natural até mesmo para controle de patógenos de origem alimentar.

Freires et al. (2015) através de uma revisão sistemática, discutiram a atividade antibacteriana de óleos essenciais e seus constituintes isolados em vista de uma potencial aplicabilidade em novas formulações dentárias. Sete bases de dados foram pesquisadas sistematicamente para ensaios clínicos, estudos *in situ*, *in vitro* e *in vivo*. A maior parte do conhecimento na literatura baseia-se em estudos *in vitro* que avaliam os efeitos de óleos essenciais em estreptococos relacionados à cárie (principalmente *Streptococcus mutans*) e lactobacilos. O mentol e o eugenol foram considerados compostos notáveis demonstrando um potencial antibacteriano. Somente o colutório bucal a base de *L. sidoides* (1%) mostrou efeitos clínicos antimicrobianos contra patógenos orais.

Lauritano et al. (2016) avaliaram o efeito de um gel contendo timol (0,05%) e carvacrol (0,05%) nas bactérias responsáveis pela periodontite crônica através do método de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). Cinco pacientes com diagnóstico de periodontite crônica na faixa etária maior que 25 anos foram selecionados. Quatro locais não adjacentes separados em quadrantes em cada paciente foram separados para monitoramento, com base em critérios onde localizaram a doença. A análise microbiana foi avaliada no 15º dia. Embora uma redução absoluta fosse observada entre as bactérias estudadas, o presente estudo demonstrou que o gel à base de timol e carvacrol tem um pequeno impacto no biofilme oral.

3- OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Analisar a eficácia da atividade antimicrobiana do bochecho contendo timol e carvacrol após a exodontia de terceiros molares inferiores.

3.2 Objetivo Específico

Comparar o efeito sinérgico antimicrobiano de bochechos contendo timol e carvacrol com a clorexidina 0,12% na aderência de microrganismos em fios de sutura de seda após extração de terceiros molares inferiores.

4- MATERIAIS E MÉTODO

4- MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (anexo 1), conforme preconiza a Resolução 466/2012 da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa / Conselho Nacional de Saúde (CONEP/CNS). Os participantes atestaram sua convicção como voluntários perante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (apêndice). A condução do estudo está de acordo com as recomendações do CONSORT - *Consolidated Standards of Reporting Trials (2010)*, a fim de garantir a qualidade do estudo clínico randomizado.

4.2 Participantes da pesquisa

Participaram desse trabalho dezenove indivíduos saudáveis com classificação de risco cirúrgico ASA I (*American Society of Anesthesiologists*), ou seja, saudáveis, sem distúrbios fisiológicos, bioquímicos ou psiquiátricos com idades entre 18 e 30 anos, de ambos os sexos, atendidos na Faculdade de Odontologia do Mato Grosso do Sul (UFMS) – FAODO, localizada na Avenida Costa e Silva s/n, bairro Universitário, Campo Grande/MS.

Foram incluídos no estudo os participantes que de acordo a anamnese (apêndice), exame clínico e radiográfico apresentarem indicação ortodôntica para exodontia bilateral de terceiros molares inferiores. A posição dos dentes deveria ser bilateralmente similar no tipo de retenção, segundo a classificação radiográfica de Pell e Gregory (1933) e Miller-Winter (1926) *apud* (Freitas 2006, p.170).

Essa classificação considera Classe I: há espaço suficiente entre o ramo ascendente da mandíbula e o segundo molar para acomodação do 3º molar (incluso); Classe II: há pouco espaço, isto é, o espaço entre o ramo ascendente e a distal do segundo molar é menor que o diâmetro mesio-distal do 3º molar incluso; Classe III: não há espaço, isto é, o 3º molar incluso está

quase que ou totalmente incluso no ramo ascendente da mandíbula e; ainda, Posição A: posição mais alta do dente incluso encontra-se acima do plano oclusal ou na mesma linha do segundo molar inferior; Posição B: posição mais alta do dente incluso encontra-se abaixo do plano oclusal e acima da linha cervical do segundo molar inferior; e Posição C: a posição mais alta do dente incluso encontra-se abaixo da linha cervical do segundo molar inferior. Essa classificação foi utilizada para garantir uma menor variabilidade no trauma cirúrgico durante a cirurgia de ambos os lados em cada paciente que foi selecionado.

Quanto aos critérios de exclusão para o sítio cirúrgico elencamos os terceiros molares inferiores com quaisquer manifestações locais que puderam contraindicar o procedimento cirúrgico, tais como: pericoronarite, cistos ou tumores odontogênicos associados ou não aos terceiros molares, trauma e quaisquer outros sinais e/ou sintomas clínicos no local da cirurgia. Durante a anamnese, foram também considerados como critérios de exclusão, os indivíduos com doenças sistêmicas e infecções que comprometeram os resultados da cirurgia, ou que contraindicaram a administração dos fármacos do estudo, assim como indivíduos alérgicos aos fármacos e materiais do estudo, fumantes, grávidas e lactantes, que fazem uso de medicação contínua (anticoncepcionais) ou que fizeram uso de medicamentos anti-inflamatórios, analgésicos até 15 dias antes de iniciar sua participação no estudo e uso de colutórios em curso.

4.3 Delineamento

O estudo é classificado como clínico randomizado duplo cego, *split-mouth* (boca dividida), ou seja, um único paciente é submetido a dois tratamentos terapêuticos diferentes, sendo:

Grupo 1 (controle) – o participante fez bochecho de clorexidina 0,12%;

Grupo 2 (experimental) – o participante realizou bochecho com uma solução de timol 0,05% e carvacrol 0,025%.

Houve um intervalo mínimo de 14 dias entre um tratamento e o subsequente, para que o processo inflamatório e de cicatrização inicial do primeiro lado operado não interfira no outro (SILVA, 2011).

Os participantes receberam 8 mg de dexametasona por via oral 1 hora antes da cirurgia. Para o controle da inflamação e dor pós-operatória, foram fornecidos aos sujeitos da pesquisa 8 comprimidos de Ibuprofeno 600 mg de 12/12 horas durante três dias e 10 comprimidos de Paracetamol 750 mg, como medicação de escape, para que sejam utilizados somente em caso de dor e/ou febre. Esse esquema posológico foi escolhido uma vez que os participantes já se encontravam sob efeito de anti-inflamatórios com provável efeito analgésico.

Os participantes da pesquisa receberam dois tratamentos distintos, em tempos diferentes por via oral delineados da seguinte maneira.

Protocolo 1: o participante fez bochecho único com clorexidina 0,12% durante 60 segundos, momentos antes da cirurgia e continuou 24 horas após o término da mesma durante 6 dias.

Protocolo 2: o participante fez bochecho único com uma solução contendo timol 0,05% e carvacrol 0,025% durante 60 segundos, momentos antes da cirurgia e continuou 24 horas após o término da mesma durante 6 dias.

O bochecho foi fornecido ao participante em um copo de 250 ml. Os mesmos foram convidados a enxaguar a boca com 15 ml do produto a ser testado por 60 segundos, de acordo com o método de METIN et al. (2006), duas vezes por dia (manhã e noite) 30 minutos após a escovação durante 6 dias.

Todos os frascos contendo os colutórios eram iguais, pré-identificadas por códigos mantidos por um segundo pesquisador, de tal maneira que o operador e o participante não sabiam de seu conteúdo. Todos os colutórios tinham laudos de procedência, uma vez realizados pelo departamento de farmácia da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS.

O lado para realização do primeiro procedimento cirúrgico foi sorteado, assim como o protocolo a ser utilizado. Desta forma, 19 participantes foram submetidos ao protocolo 1 na primeira cirurgia e 19 participantes foram submetidos ao protocolo 2 na primeira cirurgia.

O cirurgião responsável pelo procedimento cirúrgico é especialista em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial e não teve conhecimento prévio de qual dos protocolos estava sendo utilizado, assim como o participante não sabia qual protocolo estava sendo utilizado (estudo classificado como duplo cego).

4.4 Procedimentos cirúrgicos

A antissepsia extra-oral foi realizada com uma solução aquosa de clorexidina a 2%, e a intra-oral por meio de um bochecho vigoroso de acordo com o protocolo a ser seguido.

Foi realizada anestesia dos nervos alveolar inferior e lingual com complementação anestésica para o nervo bucal, utilizando uma seringa do tipo carpule com refluxo (Duflex[®] - Brasil) com agulha gengival longa 27G (Unoject[®], DFL – Brasil). A complementação para o nervo bucal feita de forma associada, através de uma anestesia terminal infiltrativa subperiosteal na região vestibular do fórnix, para possibilitar melhor descolamento do retalho, hemostasia adequada e dessensibilização do nervo bucal. Para a anestesia foi utilizada a solução anestésica de cloridrato de mepivacaína 2% com epinefrina 1:100.000 (Mepiadre[®], DFL – Brasil) sendo que a dose máxima (6,6 mg/kg) foi calculada de acordo com o peso de cada participante, porém levando em consideração a dose absoluta de 400mg do anestésico (MALAMED, 2013).

As exodontias dos terceiros molares inferiores foram realizadas pelo mesmo operador, na Faculdade de Odontologia da UFMS/FAODO – Campo Grande, no período da manhã (07h00min-12h00min), de agosto a dezembro de 2017, empregando a incisão de *Mead*. Foi realizada uma sutura em X com fio de Seda 4-0 Shalon[®] com agulha 3/8 cortante. Todos os procedimentos foram

realizados conforme preconizados por Silva (2011). Foi realizada orientação pós-operatória verbal e por escrito (apêndice).

A análise dos resultados foi realizada por profissional sem conhecimento dos protocolos que avaliou. Os enxaguantes foram devidamente separados por um profissional farmacêutico, que também fez parte da pesquisa, e codificados em protocolos 1 e 2, para que em seguida, administrados aos pacientes, sendo identificada somente ao final do experimento, após a análise estatística dos resultados.

4.5 Orientações pós-operatórias

Ao término do ato cirúrgico, os pacientes foram orientados a se alimentarem com uma dieta líquida/pastosa, hiperproteica e fria nas primeiras 24 horas pós-operatórias, além de outros cuidados de ordem geral, como não realizar esforço físico, exposição ao sol e não fazer uso de qualquer tipo de bochecho nas primeiras 24 horas após o procedimento (apêndice). Os pacientes que desenvolveram qualquer complicação pós-operatória, como hemorragias, alveolite seca ou purulenta, foram tratados e conseqüentemente excluídos da pesquisa.

4.6 Remoção das suturas

A sutura foi removida no sétimo dia pós-operatório. Após a remoção, uma das linhas da sutura foi padronizada sendo cortada com 15 mm utilizando uma régua milimetrada endodôntica esterilizada. A linha de sutura foi então transferida assepticamente para um tubo contendo 2 ml de solução salina estéril de tampão fosfato de potássio 0,1 (0,9% de NaCl), pH 7,2. As amostras enviadas para o Laboratório de Microbiologia, FACFAN, UFMS, mantendo-se as devidas condições para análise microbiológica.

4.7 Análise microbiológica

O tubo teste foi agitado no Vortex durante 2 minutos, primeiramente para obter uma mistura homogênea. Diluições decimais (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) foram então preparadas a partir desta suspensão em solução salina estéril. Alíquotas de 0,1 ml das soluções estoque e das diluições foram semeadas em duplicata em placas de Petri contendo Agar Brain Heart Infusion (BHI) como meio de cultura e preparado para a total contagem de microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos. As placas de Agar foram incubadas a 37° C em microaerofilia por 24-48 horas. Após o tempo de incubação, placas contendo as Unidades Formadoras de Colônias foram contadas por mililitro (UFC/ml) (FARIA et al. 2011).

4.8 Análise dos resultados

Os resultados foram analisados estatisticamente pelo Teste t Student com o nível de significância de 5%.

5- RESULTADOS

5- RESULTADOS

A tabela 1 mostra a média e desvio-padrão das Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL (10^6)) de microrganismos isolados de fios de sutura que cresceram em Agar BHI obtido do grupo controle (Clorexidina 0,12%) e o grupo que usou extrato de timol e carvacrol.

Tabela 1: Média e desvio-padrão das Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL (10^6)) de microrganismos isolados de fios de sutura que cresceram em Agar BHI obtido do grupo controle (Clorexidina 0,12%) e o grupo que usou extrato de timol e carvacrol.

Grupo	UFC/ml	Intervalo de confiança	p
Clorexidina 0,12%	4,766 ± 4,069 ^a	2,804 – 6,727	≥ 0,05
Extrato Timol/Carvacrol	4,847 ± 3,971 ^a	2,933 – 6,761	≥ 0,05

a – médias identificadas com a mesma letra são estatisticamente similares (Teste t-Student)

O número médio de Unidades Formadoras de Colônias/ml ($\times 10^6$) de microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos que cresceram em Brain Heart Infusion (BHI) é mostrado na figura 1.

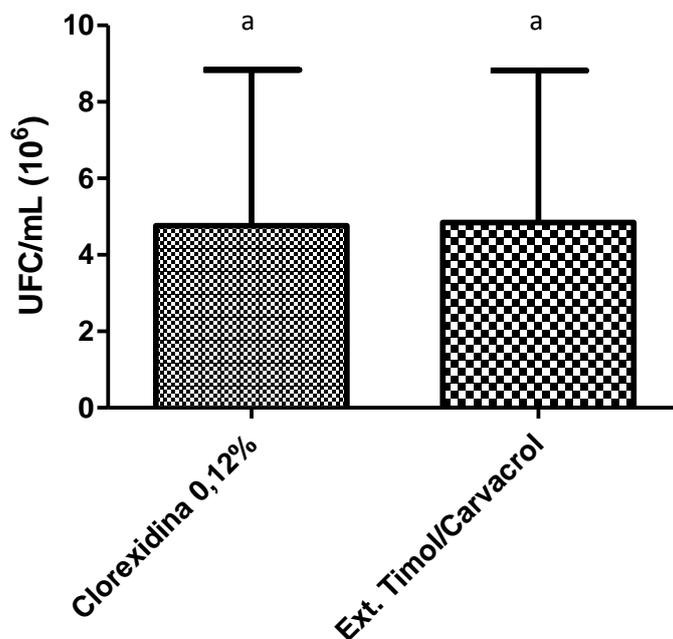


Figura 1 – Média e desvio-padrão das UFC/ml ($\times 10^6$) de microrganismos isolados dos fios de sutura que cresceram em Agar BHI obtido do grupo controle e o grupo que usou extrato de timol e carvacrol.

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas na redução microbiana entre o grupo controle e o grupo que usou extrato de timol e carvacrol.

6- DISCUSSÃO

6- DISCUSSÃO

Os fios de sutura utilizados em cirurgias orais, principalmente os de seda, são facilmente colonizáveis por serem multifilamentares. Todavia, são os mais utilizados por serem de baixo custo, de fácil manipulação, exibem baixa memória e não apresentam extremidades afiadas que irritam o tecido bucal (SANTOS e MACHADO, 2001; CUFFARI, 2007). As suturas realizadas com esse fio são incorporadas no tecido oral e banhadas em saliva, que possui uma concentração média de microrganismos de aproximadamente $7,5 \times 10^8$ microrganismos/ml. Quando utilizadas na mucosa gengival e oral podem, portanto, produzir respostas inflamatórias prolongadas no tecido como consequência de ser um reservatório contínuo de contaminação microbiana ao longo do fio de sutura (FARIA et al., 2011). Desta maneira, o presente estudo mostrou grande diminuição da concentração de microrganismos em relação ao número tido como base em estudos anteriores, exaltando assim, a brilhante importância desse trabalho.

As soluções antissépticas são utilizadas em diversas situações, tanto profiláticas quanto terapêuticas. A clorexidina é considerada o padrão-ouro em pesquisas odontológicas, pelos excelentes resultados para o controle da microbiota, entretanto, apresenta diversos efeitos colaterais, como manchamento dentário e das restaurações, alteração no paladar e gosto metálico (CATALÁN et al., 2008; COUSIDO et al., 2010). Assim, compostos fitoterápicos, que produzem menos efeitos adversos quando comparados à clorexidina, são pesquisados como alternativa de tratamento, uma vez que já foi comprovada sua ação antimicrobiana, antiviral, antifúngica e anti-inflamatória (BOTELHO et al., 2007; RODRIGUES et al., 2009; LAURITANO et al., 2016). A metodologia deste trabalho foi baseada nestes preceitos, uma vez que o paciente fez o bochecho antes e após o procedimento cirúrgico com o propósito de diminuir ao máximo a microbiota oral evitando assim complicações infecciosas no pós-operatório.

Este foi o primeiro estudo que avaliou o efeito *in vivo* da ação sinérgica do timol e carvacrol sobre o grau de contaminação em fios de sutura de seda após o procedimento cirúrgico de exodontia de terceiros molares inferiores. Estudos realizados anteriormente também analisaram o efeito *in vivo*, mas com o objetivo de avaliar o efeito do enxaguatório a base de *Lippia sidoides* sobre a inflamação gengival e placa bacteriana em pacientes com gengivite (BOTELHO et al., 2007; RODRIGUES et al., 2009; LAURITANO et al., 2016) e na produção do *S. mutans* em crianças com cárie (LOBO et al., 2014).

Na comparação com a clorexidina, o colutório deste estudo contendo timol e carvacrol apresentou resultado estatisticamente semelhante ($p \geq 0,05$). A clorexidina é consagrada como colutório de escolha após cirurgias orais, tendo segurança e eficácia comprovada (ALVES et al., 2012). Entretanto, são vários os efeitos adversos descritos em literatura. Desta forma, existe uma grande procura de enxaguatórios que possuem propriedades antibacterianas semelhantes à clorexidina, todavia, sem seus efeitos colaterais (NOGUEIRA et al., 2013). Essa propriedade antibacteriana tão almejada se deve ao fato de que qualquer processo infeccioso, obrigatoriamente, apresenta uma primeira fase que consiste na adesão bacteriana às superfícies (GEBARA et al., 1996; KOHLERT et al., 2000).

Trabalhos feitos com colutórios de óleo essencial de *Lippia sidoides*, contendo timol e carvacrol, demonstraram sua atividade antibacteriana contra *S. Mutans*, bactéria considerada cariogênica, obtendo resultados positivos (NUNES et al., 2006; RODRIGUES et al., 2009; NOGUEIRA et al., 2013; LOBO et al., 2014). Todavia, colutórios de timol e carvacrol ainda não haviam sido testados em fios de suturas no meio oral. Deste modo, reveste-se de suma importância este trabalho que além de buscar alternativas viáveis a substituição da clorexidina, busca também instigar o meio acadêmico as pesquisas com substâncias naturais com efeitos semelhantes ao que é tido como padrão-ouro, a um preço oito vezes menor e com menores efeitos adversos.

O biofilme em fios de sutura é um problema que a comunidade odontológica busca solução, pois esse acúmulo de bactérias próximo à ferida cirúrgica pode levar a infecção microbiana crônica, necrose tecidual e atraso no processo de reparo de feridas cirúrgicas (HERING et al., 1993). Posto isto, a grande importância do uso de colutórios antissépticos para diminuição da aderência bacteriana aos fios de sutura é uma conduta ímpar e preconizada, visto que reduz os riscos de bacteremia transitória, indicada especialmente em pacientes com predisposição à endocardite bacteriana, aqueles com disfunção imunológica ou até mesmo naqueles que se encontram com bloqueio maxilomandibular em pós-operatório (QIN et al., 2010).

Os resultados dos testes mostraram que a quantidade de unidades de colônias formadas foi semelhante independente da utilização do colutório de clorexidina 0,12% ou timol 0,05% e carvacrol 0,025%. O que nos leva a crer que o colutório experimental utilizado nesta pesquisa mostrou brilhante resultado, configurando uma possibilidade de uso desse colutório como uma ótima alternativa.

Na presente pesquisa, os dois colutórios mostraram um efeito semelhante. Demonstrando que em comparação com outros estudos onde as substâncias foram utilizadas isoladamente, o colutório experimental têm efeitos antibacterianos e antiaderentes potencializados quando utilizados em associação (GARCÍA-GARCÍA *et al.*, 2011). Esses resultados apoiam alguns estudos *in vitro* (ALBUQUERQUE et al., 2013) e *in vivo* (NUNES et al., 2006; BOTELHO et al., 2007; RODRIGUES et al., 2009; LOBO et al., 2014) e contrapõe-se ao de Lauritano et al., 2016, de que testou as atividades sinérgicas dos dois componentes em bactérias orais.

Assim, o presente trabalho se fez relevante uma vez que com os resultados obtidos poderemos nortear e esclarecer dúvidas de interesse clínico e influenciar futuras decisões dos profissionais quanto a um possível substituto a clorexidina. Refletindo assim, importante impacto no desenvolvimento das intervenções de saúde bucal barata em comunidades de baixa renda socioeconômica.

7- CONCLUSÃO

7- CONCLUSÃO

O colutório a base de timol e carvacrol é eficaz na atividade antimicrobiana na aderência de biofilme em fios de seda 4-0 após a exodontia de terceiros molares inferiores a ponto de compará-lo ao colutório a base de clorexidina 0,12%.

Referências

REFERÊNCIAS

- Ahmad, A.; Khan, A.; Akhtar, F.; Yousuf, S.; Xess, I.; Khan, L.A.; Manzoor, N. Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2011;30(6):41-50.
- Albuquerque A.C.L.; Pereira M.S.V.; Silva D.F.; Pereira L.F.; Viana F.A.C.; Higino J.S.; Barbosa M.R.V. The anti-adherence effect of *Lippia sidoides* Cham. Extract against microorganisms of dental biofilm. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu.* 2013;15(1):41-6.
- Alves, D; Costa, AL; Almeida, RF; João, F.C. Felino, CA. Cloreto de cetilpiridínio - Revisão da Literatura.*Rev.cir.maxilofac.* 2012;53(3):181–9.
- Anderson, J.A.; Coats, J.R. Acetylcholinesterase inhibition by nootkatone and carvacrol in arthropods. *Pestic. Biochem. Phys.* 2012;23(10):124 – 8.
- Aristatile, B.; Al-Numair, K.S.; Veeramani, C. Protective effect of carvacrol on oxidative stress and cellular DNA damage induced by UVB irradiation in human peripheral lymphocytes. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2010;18(2):111-6.
- Baby, A.R.; Maciel, C.P.M.; Salgado-Santos, I.M.N.; Dias, T.C.S.; Kaneco, T.M.; Consiglieri, V.O.; Velasco, M.V.R. Uso de Extratos de Plantas em Produtos cosméticos. *Cosmetics & Toiletries.* 2005;17(6):79-82.
- Batista FC. Batista J. Eraldo L. Fronza Br. Características microscópicas de superfície do biocompatibilidade dos fios de sutura mais utilizados em cirurgia bucal.*Rev Bras Cir Implant.* 2002;(35)9:243-9.
- Ben Arfa, A.. Combes, S.; Preziosi-Belloy, L.; Gonterd, N.; Chalier, P. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Lett. Appl. Microbiol.* 2006; 43(2):149-54.

Bilia, A.R.; Guccione, C.; Isacchi, B.; Righeschi, C.; Firenzuoli, F.; Bergonzi, M.C. Essential oils loaded in nanosystems: A developing strategy for a successful therapeutic approach. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2014;32(3):232-36.

Botelho, M.A., Nogueira, N.A.P., Bastos, G.M., Fonseca, S.G.C., Lemos, T.L.G., Matos, F.J.A., et al. Effects of a Herbal Gel containing Carvacrol and Chalcones on Alveolar Bone Resorption in Rats on Experimental Periodontitis. *Phytotherapy Research* *Phytother. Res.* 2008;22(4):442–9.

Botelho, MA; Bezerra Filho, JG; Correa, LJ; Fonseca, SJC; Montenegro, D; Gapski, et al. Effect of a novel essential oil mouthrinse without alcohol on gingivitis: a doubleblinded randomized controlled Trial. *J Appl Oral Sci.* 2007;15(3):175-80.

Castro C.E., Ribeiro J.M., Diniz T.T., Almeida A.C., Ferreira L.C., Martins E.R. et al. Antimicrobial activity of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Revta Bras. Pl. Med.* 2011;13:293-7.

Catalán A, Pacheco JG, Martínez A, Mondaca MA. In vitro and in vivo activity of *Melaleuca alternifolia* mixed with tissue conditioner on *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 105(3):327-32.

Cousido MC, Carmona IT, García-Caballero L, Limeres J, Álvarez M, Diz P. In vivo substantivity of 0.12% and 0.2% chlorhexidine mouthrinses on salivary bacteria. *Clin Oral Invest.* 2010;14(4):397-402.

Couto GBL. Biocompatibilidade do extrato hidro-alcoólico da *Lippia sidoides* Cham (Verbenaceae) / Biocompatibility of the *Lippia sidoides* Cham (Verbenaceae) hidro-alcoholic essence. *Revista do Conselho Regional de Odontologia de Pernambuco.* 2000;20(3):83-90.

Cuffari L, Siqueira JTT. Suturas em cirurgia oral e implantodontia. Rev Bras Implant.2007;3(4):12-7.

Faria, RL; Cardoso, LML; Akisue, G; Pereira, CA; Junqueira, JC; Jorge, Santos Júnior, AOC. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis*, *Camellia sinensis* and chlorhexidine against the adherence of microorganisms to sutures after extraction of unerupted third molars. J Appl Oral Sci. 2011;19(5):476-82.

Freires, I.A.; Bueno-Silva, B.; Galvão, L.C.C.; Duarte, M.C.T.; Sartoratto, A.; Figueira, G.M.; Alencar, S.M.; Rosalen, P.L. The effect of essential oils and bioactive fractions on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* biofilms: A confocal analysis. Evid. Based Complement. Altern. Med. 2015;43(4):103-7.

Freires, I.A.; Silva, I.C.; Alves, L.A.; Bezerra, L.M.; Castro, R.D. Clinical applicability of natural product(s)-containing mouthwashes as adjunctive treatment of biofilm-induced gingivitis: A systematic review. Braz. J. Med. Plants 2012,14(6), 700–11.

Freitas R. Tratado de cirurgia bucomaxilofacial. São Paulo: Santos, 2006;Ed 2ª: 201-9.

García-García, R.; López-Malo, A.; Palou, E. Bactericidal action of binary and ternary mixtures of carvacrol, thymol, and eugenol against *Listeria innocua*. J. Food Sci., 2011;76(6), 95-100.

Gebara ECE; Zardetto CGC; Mayer MPA. Estudo in vitro da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. Revista de Odontologia da USP. 1996;10(1):251-6.

Girão, V.C.C.; Nunes-Pinheiro, D.C.S.; Morais, S.M.; Sequeira, J.L.; Gioso, M.A. A clinical trial of the effect of a mouth-rinse prepared with *Lippia*

sidoides Cham essential oil in dogs with mild gingival disease. *Preventive Veterinary Medicine*. 2003; 59(12), 95-102.

Greenstein, G. Nonsurgical periodontal therapy in 2000: a literature review. *J Am Dent Assoc* 2000; 131(1):1580-92.

Guimarães, A.G.; Xavier, M.A.; Santana, M.T.; Camargo E.A.; Santos, C.A.; Brito, F.A.; Barreto, E.O.; Cavalcanti, S.C.H.; Antonioli, A.R.; Oliveira, R.C.M. Quintans-Júnior, L. J. Carvacrol attenuates mechanical hypernociception and inflammatory response. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 2012; 385(12):253–63.

Herrera D, Santacruz I, Santos S, Masdevall M, Sanz M. Differences in antimicrobial activity of four commercial 0.12% chlorhexidine mouthrinse formulations: an in vitro contact test and salivary bacterial counts study. *J Clin Periodontol* 2003; 30(4):307-14.

Iscan, G., Kirimer, N., Kurkcuoglu, M., Baser, K.H.C., Demirci, F. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002; 50(6):3943-6.

Junior, V.F.V.; Pinto, A .C. Plantas Mediciniais: cura segura?. *Química Nova*. 2005;28(3):519-28.

Kocat MM, Ozcanb S, Kocakb S, Topuzc O, Ertend H. Comparison of the Efficacy of Three Different Mouthrinse Solutions in Decreasing the Level of *Streptococcus Mutans* in Saliva. *Eur J Dent*. 2009;3(1):57-61.

Kohlert, C.; Schindler, G.; März, R.W.; Abel, G.; Brinkhaus, B.; Derendorf, H.; Gräfe, E.U.; Veit, M. Systemic availability and pharmacokinetics of thymol in humans. *J. Clin. Pharmacol.* 2002, 42(6), 731-6.

Kohlert, C.; Van Rensen, I.; März, R.; Schindler, G.; Graefe, E.U.; Veit, M. Bioavailability and pharmacokinetics of natural volatile terpenes in animals and humans. *Planta Med.* 2000;66(12):495–505.

Kwiecinski J, Eick S, Wójcik K. Effects of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil on *Staphylococcus aureus* in biofilms and stationary growth phase. *Int J Antimicrob Agents* 2009;33(4):343-7.

La Storia, A.; Ercolini, D.; Marinello, F.; Di Pasqua, R.; Villani, F.; Mauriello, F. Atomic force microscopy analysis shows surface structure changes in carvacrol-treated bacterial cells. *Res. Microbiol.* 2011;162(12):164-72.

Lacoste E. Lês propriétés aniseptiques de l' huile essentielle de *Lippia sidoides Cham.* Application à la microflora cutanée. 1996;13(2):130-6.

Lambert RJW, Skandamis PN, Coote P, Nychas GJE. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J Appl Microbiol.* 2001;91(3):453-62.

Lauritano, D; Pazzi, D; Iapichino, A; Gaudio, RM; Di Muzio, M; Lo Russo, et al. Evaluation of the efficacy of a new oral gel containing carvacrol and thymol for home oral care in the management of chronic periodontitis using pcr analysis: a microbiological pilot study. *Journal of biological regulators & homeostatic agents.* 2016; 30(2):129-34.

Lauten, J.D.; Boyd, L.; Hanson, M.B.; Lillie, D.; Gullion, C.; Madden, T.E. A Clinical Study: *Melaleuca*, *Manuka*, *Calendula* and *Green Tea* Mouth Rinse. *Phytother. Res.* 2005;19(2):951-7.

Lisboa ALP. Lowczyc DJ. Sendyk WR. Estudo comparativo das reações teciduais da gengiva humana, frente a diferentes fios de sutura absorvíveis. *Implant News.* 2006;2(6):603-9.

Lobo PLD, Fonteles CSR, Marques LARV, Jamacaru FVF, Fonseca SGC, Moraes MEA. The efficacy of three formulations of *Lippia sidoides* Cham. essential oil in the reduction of salivary *Streptococcus mutans* in children with caries: A randomized, double-blind, controlled study. *Phytomedicine*. 2014;45(4):1043–7.

Löe H, Schiött CR. The effect of mouth rinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodontal Res*.1970;5(2):79-83.

Malamed, S.F. Ação clínica de substâncias específicas. In: MALAMED, S.F. Manual de anestesia local. Rio de Janeiro: ed. Elsevier.2013;24(3):52-75.

Matos F.J.A. 2002. Farmácias Vivas. 4ª ed. EUFC, Fortaleza.

Melo, F.H.C.; Moura, B.A.; De Sousa, D.P.; De Vasconcelos, S.M.M.F; Macedo, D.S.; Fonteles M.M. et al. Antidepressant-like effect of carvacrol (5-Isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement of dopaminergic system. *Fundam Clin Pharmacol*.2011;25(6):362–7.

Metin M, Tek M, Sener I. Comparison of two chlorhexidine rinse protocols on the incidence of alveolar osteitis following the surgical removal of impacted third molars. *J Contemp Dent Pract*.2006;54(7):79-86.

Michiels, J.; Missotten, J.; Dierick, N.; Freumaut, D.; Maene, P.; Smet, S. In vitro degradation and in vivo passage kinetics of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde along the gastrointestinal tract of piglets. *J. Sci. Food Agric*. 2008;13(4):2371–81.

Michiels, J.; Missotten, J.; Fremaut, D.; De Smet, S.; Dierick, N. In vitro dose-response of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde and interaction of combinations for the antimicrobial activity against the pig gut flora. *Livest. Sci*.2007;109(12):157–60.

Monteiro MVB. Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. Leaves. *Journal of Ethnopharmacology*.2007;111(12):378–82.

Moreira A. Agentes antimicrobianos no controle da placa supragengival.Parte II. *Arquivos em Odontologia*. 2001;37(6):101-14.

Nakata HM; Cadillo EM. Efecto del té verde en la formación de la placa bacteriana por *Streptococcus mutans*. *Odontologia Sanmarquina*.2006;9(2):23-4.

Navarro RS, Esteves GV, Youssef MN. Estudo clínico do comportamento de escolares mediante escovação supervisionada e motivação no controle de placa bacteriana. *Rev Odontol Univ São Paulo*.1996;10(2):153-7.

Ngassapa, O., Runyoro, D.K.B., Harvala, E., Chinou, I.B. Composition and antimicrobial activity of essential oils of two populations of Tanzanian *Lippia javanica* (Burm.f.) Spreng. (Verbenaceae). *Flavour and Fragrance Journal*. 2003;18(3):221-4.

Nogueira, MNM; Correia, MF; Fontana, A; Bedran, TBL; Spolidorio, DMP. Avaliação Comparativa “In Vivo” da Eficácia do Óleo de Melaleuca, Clorexidina e Listerine sobre *Streptococcus mutans* e Microrganismos Totais na Saliva. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr*, João Pessoa. 2013;13(4):343-9.

Nunes RS, Lira AAM, Lacerda CM, Silva DOB, Silva JA, Santana DP. Obtention and evaluation of odontologic products made with the crude extract of *Lippia sidoides* Cham (Verbenaceae) over the dental biofilm. *Rev Odontol UNESP*. 2006; 35(4):275-83.

Nunes TS; Lira AAM; Ximenes E; Silva JA & Santana DP. Padronization of the plant material and antimicrobial activity evaluation of the crude extract from *Lippia sidoides* Cham (Verbenaceae) over *Streptococcus mutans*. *Rev. Bras. Farm*. 2005;86(2):85-90.

Nunes, R.S. Desenvolvimento Galênico de Produtos de Uso Odontológico (Creme Dental e enxaguatório Bucal) a Base de *Lippia sidoides* Cham Verbanaceae. Alecrim Pimenta. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.1999;40(4):34-41.

Oliveira FP. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. *Revista Brasileira Farmacognosia*. 2006;16(6):510-6.

Peixoto-Neves D.; Silva-Alves, K.S.; Gomes, M.D.; Lima, F.C.; Lahlou, S.; Magalhães, P.J, et al. Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. *Fundam. Clin. Pharmacol*.2010; 24(6):341-50.

Qin Y, Wang H, Karuppanapandian T, Kim W. Chitosan verde cura. *Chin J Traumatol*. 2010;13(2):91-5.

Rodrigues, ISC; Tavares, VN; Pereira, SLS; Costa, FN. Antiplaque and antigingivitis effect of *lippia sidoides*. a double-blind clinical study in humans. *J Appl Oral Sci*. 2009;17(5):404-7.

Santos MAM, Machado JL. Colaboração ao estudo de fios utilizados em suturas alveolares, avaliação histológica e clinica do fio dental. *Rev Fac Odontol UFBA*. 2001;23(2):28-32.

Silva, J.C.L. Avaliação de dois protocolos farmacológicos em exodontias de terceiros molares inferiores retidos [tese]. Piracicaba: FOP/UNICAMP; 2011: 84.

Turek, C.; Stintzing, F.C. Stability of essential oils: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf*. 2013,12(4):40–53.

Ultee, A.; Bennink, M.H.J.; Moezelaar, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002;68(4):1561–8.

Veldhuizen, E.J.A.; Bokhoven, J.L.M.T; Zweijtzer, C.; Burt, S.A.; Haagsman, H.P. Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. *J. Agric. Food Chem.* 2006;54(6):f1874–9.

APÊNDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: Comparação da atividade antimicrobiana do timol e carvacrol à clorexidina em cirurgias.

Nomes dos Pesquisadores responsáveis pela pesquisa: Danilo Chizzolini Masocatto, Túlio Marcos Kalife Coelho, Ellen Cristina Gaeti Jardim, Aline Regina Hellmann Carollo, Marina Gasparin Nogueira e Francielly Thomas.

Local/período onde será realizada a pesquisa: Faculdade de Odontologia do Mato Grosso do Sul – FAODO / (UFMS), localizada na Avenida Costa e Silva s/n, bairro Universitário, Campo Grande/MS. Clínica de Cirurgia, 1º andar. As cirurgias serão realizadas no período da manhã (07h00min-12h00min), de agosto a dezembro de 2017.

Natureza da pesquisa: Você está sendo convidado a participar deste estudo que tem como finalidade avaliar a eficácia de soluções de bochecho contendo timol e carvacrol e compará-los com bochechos de clorexidina 0,12% após a remoção de terceiros molares (sisos) inferiores. Os participantes serão divididos em dois grupos, de maneira aleatória, de acordo com o bochecho que receberão, sendo que um total de 19 participantes, perfazendo um total de 38 cirurgias. Todos participantes terão entre 18 e 30 anos, não devem estar grávidas e possuírem os dois dentes do siso inferiores, que são os últimos dentes da mandíbula, um de cada lado (38 e 48 - terceiros molares), em posição simétrica, ou seja, parecida. Para que o posicionamento dos dentes seja avaliado será necessário que todos os participantes tenham realizado previamente radiografia panorâmica, que deveriam constar no prontuário.

Assinatura do participante

Para participar, você deve estar saudável, ou seja, não possuir nenhum problema de saúde, de acordo com a ficha de anamnese que você deverá preencher juntamente com o cirurgião dentista. Serão administrados medicamentos anti-inflamatórios/analgésicos antes das cirurgias, e, se necessário o participante poderá também tomar medicamentos analgésicos após as cirurgias. Todos os medicamentos serão fornecidos sem nenhum custo ao participante. As soluções de bochechos serão manipuladas no laboratório de Farmácia da Faculdade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS/Campo Grande com garantia de procedência para que não faça mal ao participante.

Justificativa: As extrações de terceiros molares mandibulares são a remoção dos dentes do “siso” que por diversos motivos tem sua indicação de extração, sendo elas: a incapacidade de higiene adequada dos mesmos por falta de acesso com as escovas; pressão nos dentes vizinhos que gere riscos de traumas e/ou perdas do alinhamento dos dentes; alterações na normalidade da mordida e da fala motivadas pela presença dos sisos; dentes inclusos ou retidos; sisos tomados por infecção persistente como cárie ou doença periodontal (gingiva) de tratamento complicado; e, sisos em contato com a raiz dos segundos molares, podendo gerar dor e necessidade de tratamento de canal no futuro. Este estudo vai avaliar a efetividade no controle da atividade antimicrobiana (diminuição das bactérias da boca) após as remoções dos sisos, em participantes utilizando bochechos contendo clorexidina 0,12 e outro à base de Timol e Carvacrol.

Envolvimento na pesquisa: Serão garantidos esclarecimentos antes e durante o curso da pesquisa, acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e a respeito do desenvolvimento da pesquisa, assim como poderá consultar o pesquisador responsável acima identificado, sempre que julgar necessário obter informações ou esclarecimentos em relação ao projeto de pesquisa e participação no mesmo.

Assinatura do participante

Serão entregues frascos contendo o líquido para o bochecho aos participantes, estes deverão ser utilizados conforme as instruções pós-operatórias por escrito que o paciente irá receber. Os participantes têm a garantia de que receberão respostas a qualquer pergunta, e outros assuntos relacionados com a pesquisa. Os pesquisadores também assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada durante e após o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando dele.

Riscos e desconforto: O participante poderá sofrer certo desconforto no momento do procedimento anestésico. E em se tratando de uma cirurgia o participante poderá apresentar dores no pós-operatório como em qualquer outra cirurgia deste porte, contudo, o mesmo será devidamente medicado com antiinflamatórios e analgésicos para minimizar ao máximo toda e qualquer manifestação dolorosa. Os efeitos colaterais adversos associados ao uso dos bochechos não são frequentes, entretanto, alguns participantes poderão apresentar ligeiro desconforto com o gosto do mesmo e a falta de sensibilidade aos alimentos deverá desaparecer após a cessação de sua utilização, sem que haja a necessidade de suspender ou encerrar a pesquisa, uma vez que ambos os protocolos são usados frequentemente em cirurgias de terceiros molares inferiores retidos, sendo pouco provável que os bochechos que serão empregados nesta pesquisa promovam algum tipo de reação adversa. Vale salientar que antes da cirurgia todos os participantes se submeterão a uma criteriosa anamnese, ou seja, serão averiguados se os mesmos se encontram nos critérios de inclusão da pesquisa, se podem ou não fazer uso das medicações descritas.

Assinatura do participante

Por se tratar de um procedimento cirúrgico de grande índice de sucesso quando realizado por profissionais especialistas em cirurgia buco-maxilo-facial, os riscos de algum problema durante e após a cirurgia são mínimos, porém, poderão ocorrer, como por exemplo: edema (inchaço), hematoma (roxo), sangramentos, insensibilidade transitória do lábio inferior (parestesia) ou infecções pós-operatórias, que se por ventura vierem a acontecer, os participantes também serão devidamente tratados sem quaisquer ônus e será dada a continuidade do tratamento, porém o voluntário não participará mais da pesquisa. É importante evidenciar que não haverá grupo placebo (grupo em que os medicamentos não possuem princípio ativo). Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos (Resolução 466/12). Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à dignidade da participante sob garantia de indenização por parte do pesquisador e da instituição envolvida diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

Confidencialidade: Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o pesquisador responsável e toda equipe da pesquisa terão conhecimento dos dados. O nome dos participantes não será relatado. Os resultados obtidos durante da coleta dos dados serão mantidos em sigilo, mas fica liberada a divulgação em publicações (revistas) científicas, uma vez que os dados pessoais não serão mencionados, tendo como garantia o sigilo dos envolvidos na pesquisa, assegurando-lhe absoluta privacidade, preservando o anonimato. Após a utilização das radiografias, estas serão devolvidas aos prontuários dos participantes da instituição e lá serão mantidas. Sendo a imagem das cirurgias realizadas parte necessária do estudo, fica permitida a divulgação dessas em publicações científicas desde que seja preservada a identificação do participante.

Assinatura do participante

As imagens das cirurgias intra e extraorais serão mantidas com o pesquisador em dispositivo de armazenamento de dados (HD externo) não veiculado a qualquer tipo de acesso à internet. As imagens serão mantidas apenas com finalidade científica e serão armazenadas até que a pesquisa seja publicada em revista científica e/ou eventos científicos, aproximadamente até 5 anos após seu término, depois disto serão eliminadas.

Benefícios: O participante terá muitos benefícios ao receber um atendimento qualificado, gratuito e por um profissional especialista em cirurgia. Portanto, havendo a indicação para a remoção destes dentes, ela deverá ser realizada por necessidade em algum momento de sua vida, e a conveniência de fazê-la com um profissional especializado, com acompanhamento rigoroso e sem nenhum custo é uma oportunidade extremamente vantajosa. Além do que a expectativa é de que as medicações pré-operatórias e pós-operatórias descritas na pesquisa lhes proporcionem o mínimo de desconforto durante e após as intervenções cirúrgicas. Além do benefício próprio, o participante ainda estará contribuindo com a literatura científica na busca de compostos alternativos para a substituição dos bochechos de clorexidina 0,12%.

Ônus: Você, participante da pesquisa, não terá nenhum tipo de despesa ou pagamento para participar desta pesquisa, por isso não haverá nenhum ressarcimento. Mesmo fora do horário de expediente da Faculdade de Odontologia o participante terá assistência integral, acompanhamento e orientação sobre seu tratamento, através do contato com o pesquisador responsável. Todos os medicamentos serão fornecidos gratuitamente. Apenas será feita uma coleta dos dados a partir das cirurgias realizadas. O participante tem garantido o direito de tomar conhecimento, pessoalmente, do(s) resultado(s) parcial (is) e final (is) deste estudo.

Assinatura do participante

De acordo com os artigos 26 e 27 do Código de Defesa do Consumidor, o período de guarda das fichas e questionários da pesquisa serão os mesmos do tempo de guarda do prontuário odontológico, que se estende por toda a vida do profissional, no caso do pesquisador, ou do participante.

Retirada do consentimento: O participante tem o direito de se retirar do estudo, a qualquer momento, retirando seu consentimento, conforme estabelecido pela Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa/Ministério da Saúde. Caso deixe de participar do estudo por qualquer razão o sujeito não sofrerá qualquer tipo de prejuízo. Os voluntários para as cirurgias de terceiros molares que por ventura não participarem, por não se encaixarem nos critérios de inclusão da pesquisa, ou aqueles que vierem a desistir do tratamento será garantido à continuidade do tratamento.

Se por acaso, algum participante desenvolver qualquer complicação pós-operatória, tais como: hemorragias (sangramentos), alveolites (infecções no local da extração do dente), ou outras complicações advindas do tratamento, o participante será primeiramente tratado e conseqüentemente retirado da pesquisa, com a garantia de inexistência de ônus.

Serão excluídos da pesquisa: Durante a anamnese, serão também considerados como critérios de exclusão, os indivíduos com doenças sistêmicas e infecções que comprometerão os resultados da cirurgia, ou que contraindicarão a administração dos fármacos do estudo, assim como indivíduos alérgicos aos fármacos e materiais do estudo, fumantes, grávidas e lactantes, que fazem uso de medicação contínua ou que fizeram uso de medicamentos anti-inflamatórios, analgésicos até 15 dias antes de iniciar sua participação no estudo e uso de bochechos em curso.

Assinatura do participante

Em caso de dúvidas quanto a sua participação ou qualquer incômodo com relação à cirurgia, entre em contato com o pesquisador Danilo Chizzolini Masocatto (67)98130-1938 / (67)99682-2992 (danilomasocatto@hotmail.com) e/ou Comitê de Ética em Pesquisa/CEP/UFMS (3345-7187) - bioetica@propp.ufms.br.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar deste estudo preenchendo os itens que se seguem.

Assinaturas:

Para aderir ao estudo, o participante deverá assinar logo a seguir um Termo de Consentimento Livre Esclarecido. Assinando, o participante deverá estar ciente dos seguintes tópicos:

- Você leu e entendeu todas as informações contidas nesse termo e teve tempo para pensar sobre o assunto;
- Todas as dúvidas foram respondidas a contento. Caso você não tenha compreendido qualquer uma das palavras, você solicitou ao responsável pelo trabalho que esclarecesse a você;
- Você concordou voluntariamente a sua participação, sendo assim, acatará os procedimentos recomendados;
- Você entendeu que poderá interromper sua participação a qualquer momento;
- Você entendeu sobre a disponibilidade de assistência no caso de complicações no decorrer do trabalho;
- Você recebeu uma cópia do consentimento esclarecido que permanecerá com você.

Assinatura do participante

Eu, _____ DECLARO para fins de participação na pesquisa, na condição de participante da pesquisa que fui devidamente esclarecido do Projeto de Pesquisa intitulado “Comparação da atividade antimicrobiana do timol e carvacrol à clorexidina em cirurgias” desenvolvido pelo pesquisador Danilo Chizzolini Masocatto. Declaro ter sido devidamente esclarecido sobre as vantagens, desvantagens e riscos.

Data: / /

Assinatura do participante

Data: / /

Danilo Chizzolini Masocatto

Pesquisador

Ficha de Anamnese

Participante (Iniciais): _____

Código: _____

Profissão: _____

Grau de instrução: _____

Sexo: () F () M

Data/nasc: ____/____/____

Idade: _____

Peso: _____ kg - Altura: _____ m

Fumante: () sim () não Quantos cigarros por dia? _____

História médica

1 - Tem ou teve alguma das doenças abaixo?

() Diabetes () Hepatite () Tuberculose () Artrite, Reumatismo

() Asma () Febre reumática () Hipertensão () Hipotensão () Arteriosclerose

() Angina pectoris () Infarto () AVC () Prolapso de válvula mitral () Sinusite

() Anemia () Epilepsia () Depressão () Problemas renais

() Teve ou Têm doença dermatológica (pele) -

Está grávida? () sim () não ()

Está amamentando? () sim () não

() Faz uso de algum

medicamento? _____

() Alergia a medicamentos?

Quais? _____

Utiliza algum tipo de colutório? () Sim () Não

Certifico que as informações prestadas são VERDADEIRAS:

Assinatura do participante

ORIENTAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS

Após a cirurgia:

1) Gelo: Compressas de gelo, sob pressão, na área operada por 20 min de 2 em 2 horas, nas primeiras 24h.

2) Dieta: Alimentação líquida/pastosa FRIA, hiperprotéica e hipercalórica, nas primeiras 24h.

Alimentação líquida/pastosa, hiperprotéica e hipercalórica, por 5 dias.

- Não deixe de se alimentar, preferindo uma alimentação líquida ou pastosa (sucos de frutas, sorvetes cremosos, iogurtes, vitaminas, caldos e sopas após esfriar);

3) Higiene oral: Escovação normal, COM ESCOVA DO TIPO MACIA, CUIDADO no local operado.

- Bochechos com 15ml (utilizando o medidor) do colutório ofertado de 12 em 12 horas, por 1 minuto – Início: 24 horas após a cirurgia, durante 6 dias.

4) Repouso:

- Evitar exercícios físicos e mentais.

- Mantenha sempre a cabeça mais elevada com o corpo (travesseiro alto).

- Não se expor ao sol.

- Não fumar e não beber nada que contenha álcool.

- Evite falar muito.

- Não tomar banho quente na face.

5) Demais recomendações:

- Retirar a gaze protetora da boca somente após chegar em casa;

- Não faça movimentos de sucção;

- Não toque o local da ferida com os dedos ou qualquer objeto;

- Em casos de sangramento que cause desconforto, comprimir o local com uma gaze e morder a gaze, que lhe será fornecida, durante aproximadamente 30 minutos. Se depois de tomada essa providência perceber que não houve nenhuma melhora, entre em contato com a equipe, OU se tiver OUTRAS dúvidas.

Observações: O comprimido analgésico só deve ser tomado se houver dor após terminar os efeitos da anestesia local. Apenas se a dor persistir deverá ser tomado um novo comprimido analgésico, respeitando, porém um intervalo mínimo de 6 horas entre eles.

Qualquer dúvida ou necessidade entre em contato pelos telefones da equipe (67) 98130-1938.

ANEXO 1

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

- DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título Público: Análise comparativa da atividade antimicrobiana e anti-inflamatória de timol e carvacrol em cirurgia de terceiros molares inferiores.
Pesquisador Responsável: JULIO CESAR LEITE DA SILVA
Contato Público: JULIO CESAR LEITE DA SILVA
Condições de saúde ou problemas estudados: Inflamação
Odontalgia
Descritores CID - Gerais: Dentes inclusos e impactados
Descritores CID - Específicos: Dentes inclusos
Descritores CID - da Intervenção: Dentes inclusos
Data de Aprovação Ética do CEP/CONEP: 03/07/2017

- DADOS DA INSTITUIÇÃO PROPONENTE

Nome da Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS
Cidade: CAMPO GRANDE

- DADOS DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Comitê de Ética Responsável: 21 - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS
Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
Telefone: (67)3345-7187
E-mail: bioetica@propp.ufms.br