

ESTUDO DA BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE MELALEUCA ALTERNIFOLIA NA REMISSÃO DE CÁRIE E SEU USO NA PROMOÇÃO DA SAÚDE BUCAL

 <https://doi.org/10.56238/arev6n3-299>

Data de submissão: 22/10/2024

Data de publicação: 22/11/2024

Wagner Alex de Medeiros Silva

Formação: Mestrado em Gestão e Sistemas Agroindustriais
Instituição: Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)
E-mail: wagalms@icloud.com
Orcid: 0000-0002-1373-2986
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1122179078603005>

Andréa Maria Brandão Mendes de Oliveira

Formação: Doutoramento em Química
Instituição: Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)
E-mail: andrea.maría@professor.ufcg.edu.br
Orcid: 0000-0003-2313-1508
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7363025139137477>

Luiz Fernando de Oliveira Coelho

Formação: Mestrado em Gestão e Sistemas Agroindustriais
Instituição: Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)
E-mail: luiz.fernando@tecnico.ufcg.edu.br
Orcid: 0000-0002-4680-1634
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1745613417742413>

RESUMO

O estudo tem como objetivo verificar, medir e testar a eficácia microbicida do óleo essencial de Melaleuca *in vitro* contra o patógeno *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Metodologicamente, o estudo foi uma pesquisa experimental, desenvolvida no MicroLAB/UFCG e BM-Biolam, avaliando o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (melaleuca) frente ao patógeno já descrito *in vitro* em ágar Muller-Hinton – AMH respectivamente, submetendo as amostras a fatores de variação quando incubadas em incubadora do tipo DBO a aproximadamente 26,1°C. Em todos os *testes in vitro* realizados, foi demonstrado um aumento considerável no tamanho médio do halo – THM com uma redução concomitante no número de dias para remissão do patógeno. Em relação ao efeito remissivo (ERD) da Probabilidade de Sobrevivência – PS, índices percentuais de PS a 50% (IC50) foram obtidos em SM-I de 25% (G), em SM-II de 21,4% (I) e em SM-III de 30% (K). No nível de 100% (IC100) os valores médios aumentaram em SM-I de 25% (H), em SM-II de 30% (J) e em SM-III de 50% (L). Nesse contexto, ao avaliar os antibiogramas contra o táxon, torna-se viável sugerir o uso do óleo essencial – OTT no preparo de dentífricos na concentração comum de $[\sigma_{sm}] \leq 120 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ com $D \geq 54,4 \text{ mm}$, isolado ou associado à FEC, devendo o valor de $[\sigma_{sm}]$ ser ajustado a cada caso.

Palavras-chave: Cárie. Técnicas *in vitro*. Dentífricos. *Melaleuca Alternifolia*. Concentração inibitória 50.

1 INTRODUÇÃO

Existem mais de 700 espécies de microrganismos na cavidade oral, o que associado a fatores favoráveis relacionados ao ambiente e tipo de superfície, aumenta a possibilidade de formação de biofilme. Por ser considerada uma estrutura complexa e altamente dinâmica em decorrência da colonização bacteriana, o biofilme é formado especialmente por bactérias do gênero *Streptococcus*, de modo que o *Streptococcus mutans* é o principal patógeno primário na etiologia da cárie e do *Lactobacillus acidophilus* que contribui para a evolução das lesões cariosas estabelecidas nos tecidos dentários¹.

Em relação às infecções orais, a colonização da microbiana oral ocorre principalmente nas superfícies dos dentes, levando à formação de biofilme (placa dentária). O conselho é um ecossistema complicado e ativo. O biofilme presente nas superfícies dos dentes tem a capacidade de causar cárie dentária e os biofilmes supra e subgengivais podem induzir problemas periodontais. A disbiose da microbiota oral está na origem de duas importantes patologias orais: a cárie dentária e a doença periodontal, que apresentam características diferentes. A cárie é responsável pela destruição dos tecidos duros dos dentes, enquanto a periodontite está associada a uma reação imunoinflamatória destrutiva que leva à destruição progressiva e irreversível do periodonto e, consequentemente, do dente².

A cárie dentária é uma doença dependente do biofilme dependente da dieta que se desenvolve através da interação de certos fatores, como a presença de dentes suscetíveis nos quais os biofilmes microbianos são formados. Esta doença afeta mais de 2 bilhões de pessoas em todo o mundo³. A cárie dentária é um importante problema de saúde pública no Brasil, afetando principalmente as classes mais pobres. É uma doença crônica que resulta da dissolução mineral dos tecidos dentários resultante da produção de ácidos pelas bactérias quando metabolizam carboidratos, principalmente a sacarose, da dieta⁴.

O desenvolvimento de lesões de cárie nos tecidos dentários envolve um processo biológico dinâmico, onde os ácidos produzidos pela fermentação dos carboidratos da dieta afetam a integridade desses tecidos, alterando o equilíbrio físico-químico entre a superfície dentária e o ambiente externo, favorecendo a perda de minerais. A partir da acidificação constante do meio bucal, observa-se a proliferação de microrganismos tolerantes a ácidos e acidogênicos, que é um processo seletivo que resulta na interrupção da homeostase microbiana do biofilme dentário³.

O tratamento da doença durante os estágios iniciais ou chamado de tratamento precoce, acaba sendo mais eficaz quando é realizada a remoção mecânica e química do biofilme, com o uso de instrumentos de raspagem. O clínico geral não pode deixar de complementar este tratamento clínico

com fitoterapia se o objetivo for eliminar rapidamente o patógeno e evitar danos aos tecidos dentários anatomicamente adjacentes. No entanto, à medida que a periodontite progride, o tratamento por meio de cirurgia e o uso de antibióticos tornam-se necessários5.

O uso de antibioticoterapia em odontologia, uma vez que as infecções endodônticas são polimicrobianas, e predominantemente causadas por anaeróbios gram-negativos estritos, sendo em alguns casos assintomáticos e outros associados a infecções graves. Nesse sentido, o uso de antibióticos como adjuvante ao tratamento dessas infecções torna-se uma alternativa importante quando clinicamente indicado. Assim, a escolha do antibiótico prescrito, quando necessário, deve ser feita com base em dados laboratoriais, saúde do paciente, idade, histórico de alergia, absorção, capacidade de distribuição de medicamentos, além de ser baseada no conhecimento atualizado do profissional sobre microbiologia endodôntica6.

O objetivo deste estudo foi verificar, testar e mensurar as concentrações molares de óleo puro, óleo associado ao medicamento eletivo e ao medicamento eletivo isolado, a fim de determinar em quais concentrações foi obtida a máxima eficiência terapêutica, considerando parâmetros como: taxa de crescimento do patógeno (CV), tempo de remissão (T) e concentração [σ_{sm}] a fim de estabelecer esquemas terapêuticos otimizados resultantes do espécime *Streptococcus mutans*, entre outras manifestações clínicas relacionadas a ele.

2 METODOLOGIA

Nessa análise, para procariontes estreptocócicos com cultura em placas, o substrato nutritivo foi preparado em frascos com capacidade volumétrica de 100 mL, e cerca de 25 mL de caldo nutritivo foram distribuídos em cada uma das 107 placas de Petri, todas com diâmetros uniformes de 90 mm. Antes dessa etapa, os frascos eram previamente levados a banho-maria fervente para obtenção da liquefação do meio, mas sem fervê-lo. As soluções nutritivas apresentaram formulações previamente definidas nas quais foi cultivado o patógeno bacteriano *Streptococcus mutans* Clarke (ATCC 25175), as quais foram subdivididas nos grupos SM-I, SM-II e SM-III, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Esquema analítico descrevendo a metodologia adotada para análise em amostras com 50% (IC50) e 100% (IC100) contendo penicilina e sua distribuição em grupos.

Streptococcus mutans – ATCC 25175				
		IC50%	IC100%	
<i>Caneta</i>	<i>Caneta</i>	55*	110	SM-I
TTO	TTO	40	80	
<i>Caneta+TTO</i>	<i>Caneta+TTO</i>	70	140	SM-II
TTO	TTO	60	120	
<i>Caneta+TTO</i>	<i>Caneta+TTO</i>	280	560	SM-III

<i>Caneta</i>	<i>Caneta</i>	240	480**	
---------------	---------------	-----	-------	--

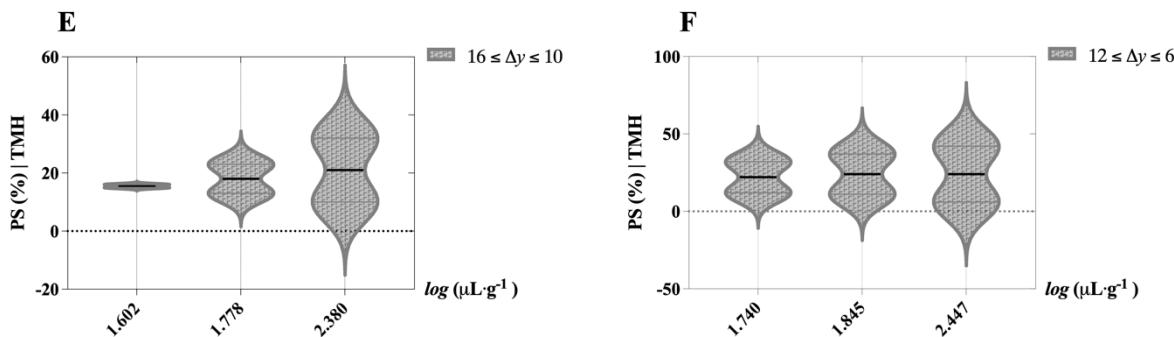
*: $[\sigma_{sm}]$ Concentração molar mínima; **: $[\sigma_{sm}]$ Concentração molar máxima.

Deve-se notar que com um único frasco foi possível encher 4 placas de Petri de 90 mm de diâmetro e que a formulação descrita pode ser ajustada e/ou suplementada, conforme necessário, para atender aos critérios de desempenho. As cepas de cultura bacteriana padrão, cada uma com seres coloniais do mesmo tipo morfológico, foram numericamente identificadas, isoladas e mantidas de 18 a 24 horas a $35\pm1^{\circ}\text{C}$. Durante o experimento, não foi observada contaminação ou crescimento de outra espécie na cultura primária, garantindo a monocultura bacteriana exclusiva do patógeno estudado.

De acordo com Diniz (2018), os microrganismos formam populações mistas, ou seja, vários tipos de microrganismos pertencem a um mesmo habitat. Por outro lado, o desenvolvimento da microbiologia, assim como todos os procedimentos laboratoriais para diagnóstico, depende da obtenção de biomassa microbiana na forma de populações puras, que quando desenvolvidas/cultivadas em meios de cultura são chamadas de culturas puras ou "axênicas". Após a semeadura dos microrganismos, sua probabilidade de sobrevivência (PS) foi avaliada pelo logaritmo da concentração do inibidor em $\mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ nas concentrações mínima e máxima.

Dito isso, foi necessário elaborar subgrupos em distinção de concentrações, mas com a mesma quantidade de inóculo em SM-I, SM-II e SM-III, nas concentrações de $40 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ (TTO), $60 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ (TTO) e $240 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ (*Pen*) na Figura 1E e quanto ao aspecto da concentração inibitória efetiva (IC50), na Figura 1F, nas concentrações de $55 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ (*Pen*), $70 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ (*Pen+TTO*) e $280 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ (*Pen+TTO*) dos mesmos grupos, no exame numérico da incógnita (Δy) medida em regressão de dias (efeito de referência cruzada), como pode ser inferido a seguir, onde o TMH representa o tamanho médio do observado halo inibitório, exemplificado na Figura 1.

Figura 1: Razão de PS (%) por TMH nas cepas de *Streptococcus mutans* (SM-I), (SM-II) e (SM-III) por *log* das concentrações de inibidores em (E) e (F), nas amostras (IC50), com expressão do intervalo regressivo em dias (Δy).



Fonte: Laboratório de Microbiologia, MicroLAB (UAO/CSTR/UFCG, 2021), adaptado pelo autor via GraphPad.

Em relação aos procariontes do gênero Mutans, amostras da bactéria foram cultivadas em tubos de ensaio específicos, os quais foram previamente esterilizados em autoclave, depois revestidos com papel alumínio e colocados no forno bacteriológico a uma temperatura de $26,1 \pm 1^\circ\text{C}$ até que se mantivesse estável a fim de se obter o crescimento ideal desse microrganismo. Apenas a quantidade de tubos utilizados no dia do experimento com o cabo previamente flambado e cuidadosamente semeado em câmara bacteriológica foi removida desses invólucros.

De acordo com o estudo desenvolvido por8, as linhagens foram semeadas pela técnica de depleção em uma placa de Petri contendo meio Muller Hinton Agar (AMH). As placas semeadas foram então incubadas a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ por um período de 24 horas. Das culturas, cinco colônias de morfologia semelhante foram escolhidas e transferidas para 4 mL de solução salina estéril (NaCl – 0,9%), ajustando os inóculos, comparando a turbidez da escala de McFarland a 0,5. A suspensão resultante apresentou aproximadamente uma concentração de $1,5 \times 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ com turbidez sui generis obtida em centrífuga a 2000 rpm.

Em alguns casos, o método de difusão em disco (DD) é mais confiável do que a determinação da CIM (concentração inibitória máxima). Tomando como exemplo o caso da detecção de estirpes produtoras de penicilinase de *S. aureus*, o diâmetro da zona de inibição combinado com o teste da borda da zona baseado no Comité Europeu de Testes de Suscetibilidade Antimicrobiana (EUCAST) é o método fenotípico mais sensível e específico. No entanto, a cultura bacteriana deve ser observada todos os dias e o diâmetro médio do halo deve ser medido com o auxílio de uma régua milimétrica e lupa para garantir a precisão das medições realizadas.

Uma placa de Petri refere-se a um tipo de recipiente com formato cilíndrico achatado, feito de plástico ou vidro, composto por duas partes: a base e a tampa. Existem modelos compostos por anéis que prendem a tampa à base, para que várias placas possam ser empilhadas, sem que elas deslizem e causem acidentes durante o uso. São utilizados com meios de cultura, pois permitem uma observação mais detalhada e segura dos microrganismos9.

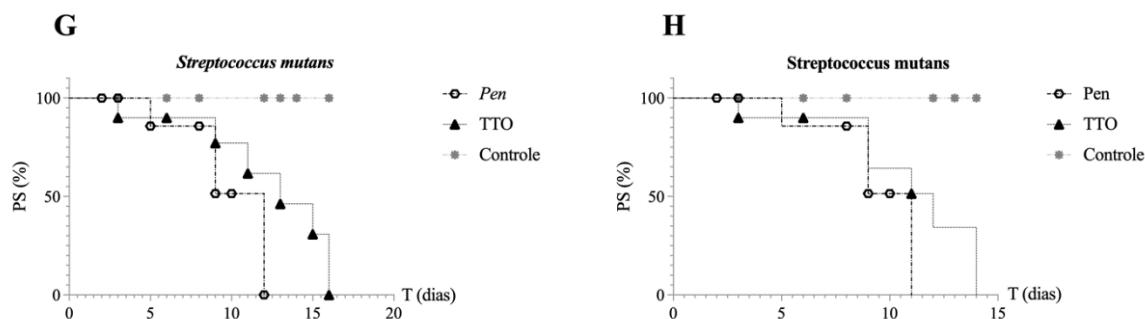
De acordo com os achados do estudo realizado por¹⁰, os microrganismos (*Staphylococcus aureus-NEWP0038*, *Enterococcus faecalis* – *NEWP 0012*, *Escherichia coli* – *ATCC 2592* e *Candida albicans* – *NEWP 0031*) foram preparados e padronizados com suspensões vazadas (0,4 ml) e espalhados em meio de cultura adequado para o tipo microbiano, utilizando-se uma alça de Drigalski estéril, que foi levemente deslizada com a suspensão sobre o Petri em três direções diferentes, depois a placa secou à temperatura ambiente ($37^{\circ}\pm1^{\circ}\text{C}$) por 5 minutos para que o inóculo fosse absorvido pelo ágar.

3 RESULTADOS

Os dados estatísticos referentes ao teste do grupo SM-I, aplicados aos demais, mostraram-se estatisticamente significativos com $p < 0,0001$ para um conjunto n de 18 amostras e frequência (f) igual a 4,466 sem suposição de esfericidade. A suposição de esfericidade, como antes, não foi demonstrada neste grupo, uma vez que as amostras das populações analisadas não mantiveram desvios-padrão idênticos entre si.

Além disso, adotando o método investigativo na perspectiva anterior e, após serem expostos a níveis mais elevados de concentração de antimicrobianos, correspondendo a 50% a mais em H em relação a G (Figura 2), observou-se uma redução significativa do efeito regressivo em dias (ERD) decorrente da morte celular de microrganismos, na ordem de 1 dia (*Pen*) e 2 dias (TTO), é perceptível, correspondendo às expectativas anteriores para o espécime *de mutans* (SM).

Figura 2: Análise do efeito remissivo da ação de *Pen* e TTO contra o táxon *Streptococcus mutans* com expressão do percentual de sobrevivência (SP) em amostras avaliadas in vitro sob o efeito de 50% (IC50) e 100% (IC100).

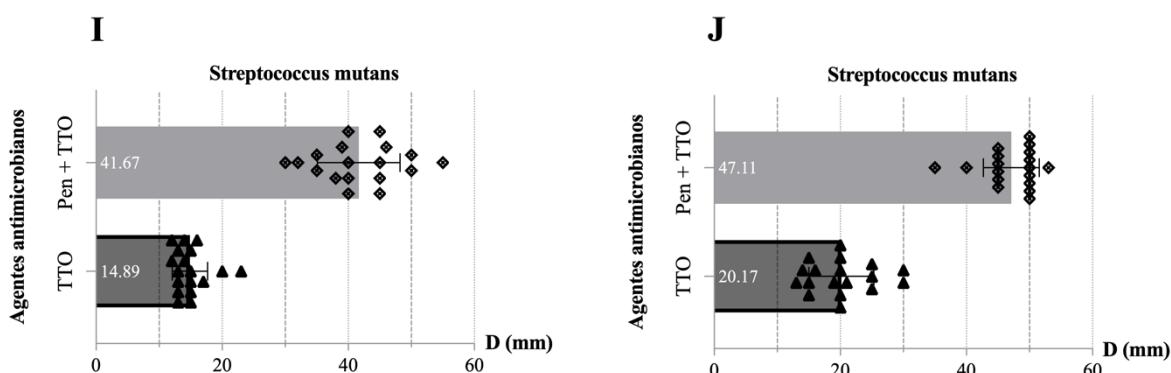


Fonte: Laboratório de Microbiologia, MicroLAB (UAO/CSTR/UFCG, 2021), adaptado pelo autor via GraphPad.0).

Os dados estatísticos relacionados ao teste do grupo SM-II mostraram-se estatisticamente significativos, com $p < 0,0001$ para um conjunto n de 18 amostras e frequência (f) igual a 4,760 sem suposição de esfericidade. A suposição de esfericidade, como antes, não foi demonstrada neste grupo, uma vez que as amostras das populações analisadas não mantiveram desvios-padrão idênticos entre si.

Adotando diferentes esquemas nas concentrações molares, o objetivo foi testar a ação microbicida do OTT contra o agente etiológico causador principal da cárie, a hipótese anterior manteve o mesmo raciocínio quanto à ocorrência de halos em placas. Assim, as leituras foram aplicadas aos grupos SM-I, SM-II e SM-III, e as leituras foram feitas em placas de Petri (I e J) expostas, desta vez, à penicilina (*Pen*) associada à OTT e, em outro conjunto de amostras, apenas à OTT, nas concentrações de $70 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ e $60 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ respectivamente, equivalentes a 50% de IC, de acordo com a cultura SM-II (Figura 3I) e em outro grupo, nas concentrações de $140 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ e $120 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente, equivalentes a 100% de IC evidente na cultura de SM-II (Figura 3J). Os valores médios dos halos são descritos abaixo. Os valores médios titulados com reagente por placas de Petri são descritos a seguir, tanto para óleo puro quanto em ação sinérgica.

Figura 3: Médias para o tamanho médio do halo (TMH) em comparação com o táxon *Streptococcus mutans* em amostras randomizadas para 36 (I) e 36 (J) unidades, respectivamente, em relação à leitura com 50% (IC50) e 100% (IC100) do agente inibitório.



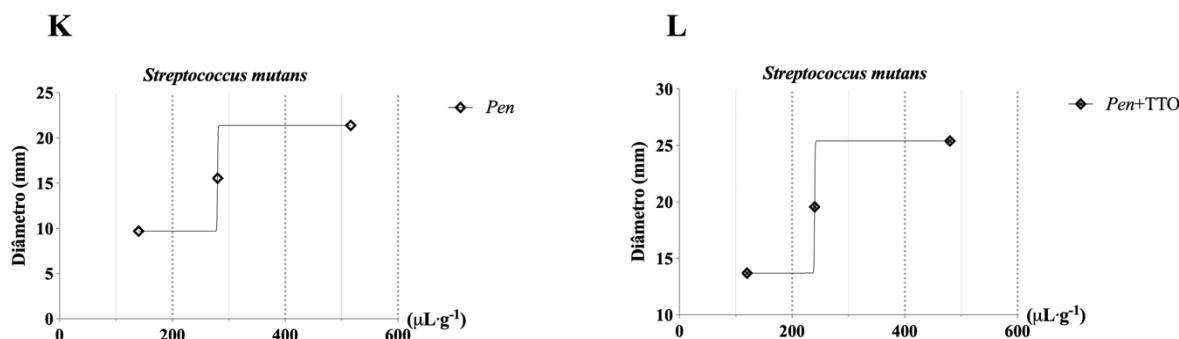
Fonte: Laboratório de Microbiologia, MicroLAB (UAO/CSTR/UFCG, 2021), adaptado pelo autor via GraphPad.

Os dados estatísticos relacionados ao ensaio do grupo SM-III mostraram-se estatisticamente significativos com $p < 0,0001$ para um conjunto n de 18 amostras e frequência (f) igual a 6,878 sem suposição de esfericidade. A suposição de esfericidade, como antes, não foi demonstrada neste grupo, uma vez que as amostras das populações analisadas não mantiveram desvios-padrão idênticos entre si.

Em uma continuação experimental sistemática, semelhante às análises anteriores, as exposições foram atribuídas apenas à *Pen*, no chamado grupo SM-III, no qual foi adicionada metade da concentração máxima do fitofármaco, ou seja, $240 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$, obtendo-se um diâmetro de halo próximo a 9,7 mm, e na concentração máxima, o valor aproximado de 21,39 mm, ou seja, $480 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ (Figura 4K). Por outro lado, em relação ao fármaco *Pen+TTO*, resultados mais intensos foram obtidos, ressaltando-se que a supressão das colônias proporcionou halos com diâmetro médio próximo a 13,7

mm na metade da concentração máxima de $280 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ e diâmetro médio do halo de 25,39 mm, na concentração de $560 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ (Figura 4L).

Figura 4: Análise do efeito inibitório pela ação de *Pen* e *Pen+TTO*, respectivamente, contra o táxon *Streptococcus mutans* com expressão de IC 50% e IC 100% em (K) e (L), em cada caso, em amostras avaliadas *in vitro*.



Fonte: Laboratório de Microbiologia, MicroLAB (UAO/CSTR/UFCG, 2021), adaptado pelo autor via GraphPad.

Assim, é possível garantir a manutenção do padrão repetitivo inserido em cada grupo dentro dos limites de confiabilidade comum entre todos os testes estatísticos realizados e presumir a dose/prescrição em níveis confiáveis, obtendo velocidade efetiva na remissão bacteriana.

3.1 CRESCIMENTO DAS COLÔNIAS

Além disso, preservando o método investigativo para os demais grupos bacterianos, após serem expostos a níveis mais elevados de concentração de antimicrobianos, correspondendo a 50% a mais em H em relação ao G (Grupo SM-II). É perceptível a redução significativa do efeito regressivo em dias (ERD) decorrente da morte celular dos microrganismos, em todos os casos da ordem de 1 dia (*Pen*) e 2 dias (TTO), por meio de duas vezes a dose titulada na superfície, após o crescimento na semeadura. Comprovou-se que o aumento molar resultou em maior remissão bacteriana até valores com limites específicos já postulados na Tabela 1 deste estudo.

A associação benéfica do OTT com a penicilina foi demonstrada pela boa dispensabilidade no meio e solubilidade satisfatória devido ao coeficiente de partição aproximado entre ambos, após exposição a níveis mais elevados de concentração do antimicrobiano, correspondendo a 50% a mais do que o grupo subsequente, com redução significativa do efeito regressivo em dias (ERD) decorrente da morte celular dos microrganismos, da ordem de 5 dias (*Pen+TTO*) e 3 dias (TTO), novamente refutando qualquer dúvida quanto à sua possível associação.

Com o aumento do uso de antibióticos de amplo espectro, a proliferação de fungos oportunistas é favorecida por promover uma diminuição acentuada da microbiota oral. No entanto, nota-se que algumas bactérias do biofilme têm a capacidade de inibir a ação desses fungos por competição,

algumas delas relacionadas ao desenvolvimento de cárie dentária, como o *S. mutans*, que tem a capacidade de secretar moléculas sinalizadoras do ácido trans-2-denóico que estimulam peptídeos, capazes de inibir a transição da levedura para o estado hifal de *C. albicans*¹¹ estudado em outra literatura científica.

Devido ao crescente aumento dos casos de resistência clínica aos tratamentos antibacterianos, há necessidade de introduzir novas opções de regimes terapêuticos eminentemente preventivos, bem como fitoterápicos. Nesse sentido, os profissionais de odontologia indicam o uso de dentifrícios orais (dentifrícios) como auxiliar no tratamento mecânico da remoção de cárie ou mesmo como medida preventiva, pois é eficaz em minimizar ou eliminar completamente o biofilme dentário¹².

3.2 ANÁLISE DO ANTIBIOGRAMA

Adotando uma metodologia científica sistemática voltada para testar a ação microbicida do OTT contra outro microrganismo, a bactéria *S. mutans*, a hipótese anterior manteve o mesmo raciocínio quanto à ocorrência de halos em placas. Assim, outros grupos de cepas bacterianas foram estudados e as leituras foram feitas em placas de Petri (G e H) expostas, desta vez à penicilina (*Pen*) e, em outro conjunto de amostras, associadas à OTT, nas concentrações de $55 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ e $40 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente, equivalentes a 50% de IC, de acordo com a cultura SM-I e em outro grupo, nas concentrações de $110 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ e $80 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente, equivalentes a 100% de IC.

Da mesma forma, foram adotados os preceitos já estabelecidos, com o objetivo de testar a ação microbicida da OTT, e outros grupos de cepas bacterianas foram estudados, e as leituras foram realizadas em placas de Petri (I e J) expostas, desta vez, à penicilina (*Pen*) associada à OTT, e em outro conjunto de amostras, apenas à OTT, nas concentrações de $70 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ e $60 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente, equivalente a IC 50%, de acordo com a cultura SM-II e em outro grupo, nas concentrações de $140 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ e $120 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente, equivalentes a 100% de IC evidentes na cultura SM-II, sendo adquiridos valores de remissão bem-sucedidos nas placas e nas demais repetições.

Continuando o raciocínio, aduz-se que o intervalo de confiança para administrar o OTT seria interposto entre $40 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ e $120 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$, ou seja, a dose-resposta seria incluída no intervalo matemático $40 \leq [\sigma_{sm}] \leq 120$, onde $[\sigma_{sm}]$ Abrangeria qualquer valor aceitável visando à sua incorporação em formulações farmacêuticas para casos clínicos leves a moderados de cárie dentária em pacientes saudáveis. Para pacientes em uso clínico de drogas imunossupressoras ou quimioterápicas, a dosagem de *Pen+TTO* seria menor que $[\sigma_{sm}] \leq 140 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$. Também é de extrema importância ressaltar que a penicilina, aplicada no dentífricio oral, é restrita a exames laboratoriais realizados exclusivamente *in vitro*.

As associações experimentais realizadas em laboratório por meio do método de difusão em disco do óleo essencial com penicilina, corroboram sua interação farmacológica estável entre os componentes da fórmula e, conforme o caso, com notável ação potencializadora inibitória do crescimento bacteriano do gênero "mutans" abordado nesta pesquisa. Em relação aos efeitos colaterais que podem ocorrer, a medicação sistêmica é indicada apenas em infecções orais quando não há resposta à medicação tópica. Como resultado, os extratos mostraram-se eficazes, inibindo o crescimento de bactérias ainda no biofilme dental (pré-teste clínico), sugerindo o uso de plantas como meio alternativo na terapia odontológica.

4 DISCUSSÃO

Também é de extrema importância ressaltar que tanto o cetoconazol quanto a penicilina, aplicados em enxaguatório bucal e dentífrico oral, respectivamente, ficaram restritos aos exames laboratoriais realizados *in vitro*. Ambos são agentes antimicrobianos que atuam sobre microrganismos emanados de diferentes reinos biológicos, servindo como parâmetro comparativo para mensuração da eficácia microbicida do óleo essencial e não devem ser incluídos nesses produtos que fazem parte da higiene da cavidade bucal. As associações experimentais realizadas em laboratório por meio do método de difusão em disco do óleo essencial com cetoconazol e penicilina, corroboram sua interação farmacológica estável entre os componentes da fórmula e, conforme o caso, com notável ação inibitória potencializadora sobre o crescimento fúngico, mas também bacteriano.

A penicilina é a droga de escolha, pois é bactericida, tem eficácia contra os prováveis microrganismos presentes nas infecções odontogênicas e é uma droga de baixa toxicidade. No entanto, várias reações de hipersensibilidade podem ser identificadas, que estão associadas ao uso de penicilinas, como erupções cutâneas, desde formas maculopapulares até dermatite esfoliativa, urticária; e é necessário substituí-lo por outro grupo de medicamentos¹³.

De acordo com o estudo realizado por¹⁴, observa-se que os autores identificaram que a atividade antimicrobiana dos enxaguatórios bucais à base de 77 digluconato de clorexidina – 0,12%, fluoreto de sódio – 0,05%, digluconato de clorexidina (Ca) – 0,06%, fluoreto de sódio – 0,05% e acetato de zinco 0,34% (OR), quando comparados com o enxaguatório bucal etanol à base de gluconato de clorexidina – 0,12% em *Candida albicans* demonstraram que o grupo Ca apresentou atividade fungicida sobre *C. albicans* semelhante ao controle, porém com menor ação fungistática, enquanto o OR apresentou apenas ação fungistática semelhante ao controle nos isolados avaliados.

Nesse sentido, no que diz respeito ao tratamento da estomatite protética após adaptação e formação do biofilme, deve-se realizar o uso de medicamentos antimicrobianos como anti-sépticos,

antibacterianos ou antifúngicos. Em relação aos efeitos colaterais que podem ocorrer, a medicação sistêmica é indicada apenas em infecções orais quando não há resposta à medicação prescrita. No entanto, vale ressaltar que foi demonstrado que *Pen+TTO* é menos tóxico que os antibióticos betalactâmicos, pois podem estar associados à hepatotoxicidade e nefrotoxicidade. Assim, os extratos mostraram-se eficazes, inibindo o crescimento de bactérias do biofilme dentário, sugerindo o uso de plantas e incentivando a síntese de óleo essencial (OTT) como meio alternativo na terapia odontológica diária¹⁴.

Corroborando essa discussão¹² explicita-se a relevância das associações fitoterápicas, uma vez que o tratamento realizado com fitoterápicos ou fitoterápicos, ou seja, produtos farmacêuticos formulados a partir de plantas, é baseado em evidências ou ciência para o uso de compostos no tratamento e/ou prevenção de doenças, onde é possível o uso de plantas ou suas partes, com características químicas conhecidas e que tenham a capacidade comprovada de produzir um efeito farmacológico em membranas ou materiais nucleares bacterianos, como RNA ou DNA procariótico.

Com base nesse cenário, considera-se que os fitoterápicos possuem amplo escopo terapêutico e não apresentam tantas interações medicamentosas, elegendo-os para os consultórios odontológicos devido à sua segurança farmacocinética e farmacodinâmica, excelente taxa de depuração renal (excreção) e quase ausência de hepatotoxicidade, tornando os riscos mínimos ao ingerir uma dose considerada tóxica ou letal de um medicamento de origem vegetal administrado por via oral.

5 CONCLUSÃO

Assim, no que diz respeito aos dentífricos orais, a inserção do óleo essencial comporia uma via de formulação farmacoquímica eficaz no tratamento e prevenção de casos clínicos de cárie dentária, otimizando sua ação antibacteriana, especialmente contra o patógeno *Streptococcus mutans*, possibilitando sua inclusão em dentífricos, géis ou dentífricos em doses terapêuticas. Sua viabilidade foi verificada com supressão significativa já nas primeiras aplicações crescentes do óleo, seja isolada ou associada à penicilina, por meio do resgate das colônias bacterianas das placas, inviabilizando sua sobrevivência mesmo em seus estágios iniciais de desenvolvimento.

Esses cuidados se devem ao caráter preventivo dada a escassez de experimentos que atestam a interação segura dos elementos que compõem o fitofármaco contido no óleo essencial com as células neoplásicas. Essa interação seria indesejável, como exposta, e poderia resultar em complicações clínicas para os indivíduos em processo de tratamento quimioterápico. A partir disso, infere-se a relevância da atuação do cirurgião-dentista na realização de protocolos clínicos pela ação mecânica de

instrumentos apropriados voltados para a remoção do biofilme ou cálculo dentário associado à formulação proposta neste trabalho.

Conclui-se que a inclusão do óleo essencial em dentífricos até a concentração de $[\sigma_{sm}] \leq 120 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ (IC100%) com $D \geq 5,44 \text{ mm}$ possibilita o desenvolvimento de fórmulas farmacêuticas promissoras, uma vez que possui propriedades antibióticas frente às espécies avaliadas em ambas as formulações. Recomenda-se que seja seguro prescrever em consultórios para jovens com mais de 12 anos e para adultos e idosos. A advertência terapêutica prescritiva recai sobre o público que tem imunidade esgotada por doenças patológicas graves que acometem a cavidade oral ou o trato respiratório superior e por aqueles pacientes imunossuprimidos, e mesmo nesses casos, uma dose inferior a $[\sigma_{sm}] \leq 60 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ (IC50%) nas dosagens clínicas odontológicas diárias.

REFERÊNCIAS

- CONTRERAS, S. C. M. Restaurações diretas com materiais bioativos: observações clínicas, in vitro e revisão sistemática. 2022. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2022. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/238016/contreras_scm_dr_sjc.pdf?sequence=4&isAllowed=y>. Acesso em: 2 jun. 2025.
- MORAIS, D. A. B. Prótese dentária e candidáse oral. 2022. Dissertação (Mestrado) – Instituto Universitário Egas Moniz, [S.1.], 2022. Disponível em: <https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/42642/1/Morais_Daniela_Alexandra_Barroso.pdf>. Acesso em: 2 jun. 2025.
- WALTERMANN, E. D. M. Candida spp. e cárie dentária: uma revisão sistemática da literatura e meta-análise. 2018. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/238674>>. Acesso em: 2 jun. 2025.
- SOUZA, F. S.; LOPES, B. C.; COSTA, E. M.; ALVES, C. M. C.; QUEIROZ, R. C. S.; TONELLO, A. S.; RIBEIRO, C. C. C.; THOMAZ, E. B. A. Persistem iniquidades sociais na distribuição da cárie dentária em adolescentes maranhenses? Contribuições de um estudo de base populacional. Ciência & Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, v. 26, n. 7, p. 2625-2634, 2021. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/csc/a/npS3dHgCTFcxgv59bGwKRDD/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 2 jun. 2025.
- VASCONCELOS, M. O. Biomembranas contendo nanopartículas poliméricas com lidocaína e cloranfenicol para regeneração tecidual guiada. 2019. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2019. Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/9713/5/Dissertação%20-%20Mariana%20Oliveira%20Vasconcelos%20-%202019.pdf>>. Acesso em: 2 jun. 2025.
- ARNAUD, R. R.; COSTA, J. B. R. F.; ROMÃO, T. C. M.; SANTOS, M. G. C.; SILVA, F. V. D.; ANDRADE, K. S.; SILVA, L. P. L. Conhecimento de acadêmicos de Odontologia sobre a prescrição antibiótica em tratamentos endodônticos. Arch Health Invest., [S.1.], v. 10, n. 7, p. 1195-1200, 2021. Disponível em: <<https://archhealthinvestigation.com.br/ArcHI/article/view/5440/7202>>. Acesso em: 2 jun. 2025.
- MATUSCHEK, E.; BROWN, D. F.; KAHLMETER, G. Desenvolvimento do método de teste de suscetibilidade antimicrobiana por difusão em disco EUCAST e sua implementação em laboratórios de microbiologia de rotina. Microbiologia Clínica e Infecção, [S.1.], v. 20, n. 4, p. 255-266, 2014.
- NONATO, I. S. Efeito antibacteriano do óleo essencial de *Mentha piperita* L. sobre as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. 2018. Monografia (Graduação) – Faculdade Maria Milza, Governador Mangabeira, 2018. Disponível em: <<http://famamportal.com.br:8082/jspui/bitstream/123456789/759/1/Isael%20da%20Silva%20Nonato%20TCC.pdf>>. Acesso em: 2 jun. 2025.

PROLAB. A importância da Placa de Petri para procedimentos com meio de cultura. [S.l.]: Prolab, 2018. Disponível em: <<https://www.prolab.com.br/blog/equipamentos-aplicacoes/a-importancia-da-placa-de-petri-para-procedimentos-com-meio-de-cultura/>>. Acesso em: 2 jun. 2025.

DUTRA, M. J.; PIZZOLATTO, G.; CORRALO, D. J. Ação antimicrobiana, *in vitro*, de antissépticos bucais sobre fungos e bactérias. FOL - Faculdade de Odontologia de Lins/Unimep, Lins, v. 32, p. 3-12, 2022. Disponível em: <<https://www.metodista.br/revistas/revistasunimep/index.php/Fol/article/view/41704368/2674>>. Acesso em: 2 jun. 2025.

MEDEIROS, M. R. S. Uso da terapia fotodinâmica antimicrobiana no tratamento de candidose oral: ensaio clínico, controlado e randomizado. 2020. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/29288/1/Usoterapiafotodinamica_Medeiros_2020.pdf>. Acesso em: 2 jun. 2025.

CHAGAS, C. F. Uso de um-enxaguatório bucal com extratos fitoterápicos de *Mentha piperita*, *Pimpinella anisum* e *Citrus limon* no tratamento de candidíase oral: uma avaliação *in vivo*. 2019. Monografia (Graduação) – Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2019. Disponível em: <<https://repositorio.unisc.br/jspui/bitstream/11624/2650/1/Caroline%20Furrati%20Chagas.pdf>>. Acesso em: 2 jun. 2025.

PRADO, L. Dorothy Hodgkin e seus estudos cristalográficas sobre a estrutura da penicilina. História da Ciência e Ensino – Construindo Interfaces, São Paulo, v. 18, p. 128-151, 2018. Disponível em: <<https://revistas.pucsp.br/index.php/hcensino/article/view/36762/26735>>. Acesso em: 2 jun. 2025.

CRUZEIRO, M. E. S.; CLEFF, M. B.; BLANK, D. E.; MEIRELES, M. C. A. Controle da formação biofilme por *Candida albicans* em pacientes usuários de próteses dentárias. Conjecturas, [S.l.], v. 22, n. 11, p. 1-11, 2022. Disponível em: <<http://www.conjecturas.org/index.php/edicoes/article/view/1532/1147>>. Acesso em: 2 jun. 2025.