

EFEITO DO BOCHECHO DE MELALEUCA NANOPARTICULADA NA INFLAMAÇÃO E NO BIOFILME DENTAL: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO CRUZADO

TACIANE MENEZES DA SILVEIRA¹, JOSIELE PAZINATTO², NATÁLIA MARCUMINI POLA³, FRANCISCO WILKER MUSTAFA GOMES MUNIZ⁴, FABRICIO BATISTIN ZANATTA⁵, MAÍSA CASARIN⁶.

¹Universidade Federal de Pelotas – tacianesvs@hotmail.com²; Universidade Federal de Santa Maria – josielepazinatto@gmail.com; ³Universidade Federal de Pelotas - nataliampola@gmail.com; ⁴Universidade Federal de Pelotas – wilkermustafa@gmail.com; ⁵Universidade Federal de Santa Maria – fabriciobzanatta@gmail.com; ⁶Universidade Federal de Pelotas – maisa.66@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O ambiente bucal possui centenas de espécies bacterianas incorporadas em uma matriz extracelular rica em polissacarídeos, conhecida como biofilme. Quando o biofilme patológico se desenvolve nas superfícies dos dentes, pode trazer efeitos deletérios a nível local e sistêmico (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). Esses processos progressivos podem variar em gravidade, mas todos têm um impacto significativo na função e na estética (GERRITSEN et al., 2010). Embora o controle mecânico do biofilme dental seja a forma mais difundida de higiene bucal, (VAN DER WEIJDEN; HIOE, 2005) a falta de motivação, dificuldade de acesso e habilidades inadequadas podem tornar tais medidas ineficazes (PETERSEN, 2004). Assim, bochechos são amplamente empregados no processo de higiene bucal (BARNETT, 2006).

Nos últimos anos, há uma crescente busca por compostos naturais que exerçam efeito sobre os mecanismos biológicos. A *Melaleuca alternifolia* (MEL) é um produto à base de plantas com propriedades antissépticas, antibacterianas, antifúngicas, antivirais e anti-inflamatórias (CARSON; HAMMER; RILEY, 2006). Em estudos *in vitro*, a MEL demonstrou a capacidade de inibir o crescimento e a adesão de biofilmes mono-espécies de periodontopatógenos e bactérias cariogênicas (TAKARADA et al., 2004), mas ensaios clínicos demonstraram um menor efeito anti-biofilme em comparação com a clorexidina (CHX) (SOUKOULIS; HIRSCH, 2004). Essa característica provavelmente se deve à baixa estabilidade clínica, baixo grau de miscibilidade da água, alta volatilidade e dificuldades na penetração do biofilme dental (CARSON; HAMMER; RILEY, 2006). Para reduzir esses problemas, a nanotecnologia resultaria em um produto de tamanho reduzido com melhor eficácia terapêutica, bem como maior estabilidade e substantividade (LIOLIOS et al., 2009).

Apesar dos benefícios da nanotecnologia, não foram realizados ensaios clínicos para investigar a influência das nanopartículas de MEL na redução do biofilme, no volume de fluido gengival e na percepção individual. Portanto, o objetivo do presente estudo foi comparar os efeitos anti-biofilme e anti-inflamatório da CHX e das nanopartículas de MEL sobre superfícies dentárias livres de biofilme (LB) e com biofilme (CB).

2. METODOLOGIA

Este ensaio clínico randomizado cruzado duplo cego, foi conduzido de acordo com os princípios estipulados na Declaração de Helsinque e recebeu a

aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CAAE: 52275816.0.0000.5346).

Sessenta participantes saudáveis da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Santa Maria foram incluídos como amostra de conveniência. Os critérios de inclusão foram idade ≥ 18 anos, saúde sistêmica adequada (não submetidos a tratamento médico) e ter pelo menos seis dentes por quadrante (MOR-REINOSO et al., 2016). Foram elencados critérios de exclusão e apenas 2 indivíduos foram excluídos.

A randomização foi realizada por um pesquisador (L.M.O.) não envolvido no processo de coleta de dados. Tanto o examinador quanto os participantes desconheciam o tratamento utilizado. Para manter a ocultação, os bochechos foram colocados em frascos opacos codificados.

Todos os participantes foram submetidos a um período pré-experimental de 14 dias, onde receberam profilaxia profissional e foram instruídos a realizar um controle meticuloso do biofilme até que a saúde gengival fosse alcançada (WALMSLEY et al., 2008).

Após a inscrição, cada participante foi randomizado para um grupo de intervenção: Grupo 1 - digluconato de clorexidina 0,12% (CHX); Grupo 2 - Nanopartículas de *Melaleuca alternifolia* 0,3% (MEL). No início do estudo, os participantes receberam profilaxia profissional de toda boca e foram instruídos a abster-se de todas as medidas de controle mecânico por três dias. No dia 3, foi coletado fluido crevicular gengival (FCG) e os participantes foram randomizados para profilaxia profissional em dois quadrantes (Q) contralaterais randomizados (Q1-Q3 ou Q2-Q4), deixando 2 quadrantes livres de biofilme (LB) e 2 com biofilme (CB). Os participantes receberam seus enxaguatórios bucais e foram instruídos a realizarem o bochecho com 15 ml da solução, por 60 segundos, duas vezes ao dia, sem realizar nenhuma medida adicional de higiene bucal. No dia 7, o FCG foi novamente coletado, e o índice de placa foi classificado utilizando uma solução reveladora. Todos os participantes receberam profilaxia profissional abrangente e foram instruídos a retomar suas práticas normais de higiene bucal. Os participantes retornaram após um período de *washout* de 21 dias, e os procedimentos experimentais foram repetidos usando o outro produto. A adesão do participante foi avaliada medindo-se a quantidade de solução nos frascos retornados.

O biofilme foi avaliado pelo índice de placa de Quigley & Hein (QHPI), modificado por TURESKY ET AL., (1970). Todas as medidas clínicas foram registradas pelo mesmo examinador (JP) que havia sido treinado e calibrado para o uso do QHPI ($\kappa = 0,78$) e foi cegado para a alocação de grupos e para a profilaxia de quadrantes. As amostras de FCG foram obtidas do sítio mesio-vestibular dos primeiros pré-molares superiores e inferiores.

No dia 7, durante as duas intervenções, todos os participantes receberam um questionário abordando o sabor do produto, duração do paladar, alteração do paladar, tempo de aplicação, conforto de uso e percepção do controle do biofilme.

A análise descritiva do índice de placa foi expressa como média e desvio padrão. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para determinar a distribuição (normal/não normal) dos dados. Diferenças intra e inter grupos e comparações entre início e final foram determinados usando o teste de Wilcoxon. O nível de significância foi de 5%. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando um software estatístico (SPSS 23.0, Chicago, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhum participante foi perdido no acompanhamento. Sexo feminino representou 63,7% da amostra. A média de idade foi de $24,7 \pm 5,73$ anos e 92,7% dos participantes eram brancos. Nenhum evento adverso grave ou efeitos colaterais foram relatados.

Comparações intergrupos revelaram valores médios estatisticamente menores de placa de boca toda com CHX em comparação com MEL nas superfícies LB ($2,65 \pm 0,34$ vs. $3,34 \pm 0,33$, $p < 0,05$) e CB ($2,84 \pm 0,37$ vs. $3,37 \pm 0,33$, $p < 0,05$). Nas comparações intragrupo, a MEL demonstrou um efeito similar nas superfícies LB e CB. Enquanto CHX foi mais eficaz na superfície LB.

Na comparação intragrupo, menores volumes de FCG foram encontrados ao longo do tempo em quase todos os grupos. No entanto, as diferenças foram significativas apenas em dentes com superfícies LB submetidos à CHX ($p < 0,05$). Na comparação intergrupos, não foram encontradas diferenças significativas entre CHX e MEL ($p > 0,05$).

Com relação aos resultados do questionário que abordou as percepções dos participantes, a CHX apresentou melhor sabor ($p < 0,001$), maior alteração do paladar ($p < 0,001$) e maior controle do biofilme ($p < 0,001$). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as soluções testadas para a duração do paladar, tempo de aplicação ou conforto de uso.

O ensaio clínico randomizado cruzado demonstrou um efeito anti-biofilme menor nos grupos MEL em comparação com o grupo CHX, enquanto não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em relação ao FCG nas superfícies LB ou CB.

Apesar do efeito antibacteriano descrito em estudos laboratoriais, (TAKARADA et al., 2004) os presentes resultados demonstraram um menor efeito anti-biofilme da MEL em comparação com a CHX. Os escores contrastantes de biofilme relatados em estudos clínicos podem ser devidos às diferentes concentrações e aplicações testadas. Em alguns estudos, uma solução de MEL de 1,5% (ALKAWAS et al., 2014) e gel de MEL de 8% (SOUKOULIS; HIRSCH, 2004) levou a uma baixa redução nos escores de biofilme quando comparados à CHX, o que está de acordo com os presentes achados. Por outro lado, estudos avaliando o tratamento periodontal com e sem um gel MEL 5% encontraram uma redução nos escores de biofilme entre os valores basal e final (ELGENDY; ZINELDEEN; ALI, 2013; RAUT; SETHI, 2016).

Em relação ao efeito anti-inflamatório, houve redução do volume de FCG em todos os grupos. Até onde sabemos, este é o único estudo para avaliar o efeito das nanopartículas de MEL no volume de FCG, que é considerado um preditor de inflamação gengival (GRIFFITHS et al., 1992).

Os presentes resultados mostram que, embora não inibindo a formação de biofilme, as nanopartículas de MEL exibiram importantes propriedades anti-inflamatórias. É possível que o efeito anti-inflamatório similar de CHX e MEL seja devido ao tamanho nanométrico das partículas, o que facilita a penetração do óleo na matriz polimérica do biofilme. É possível que as nanopartículas de MEL tenham falhado na inibição do biofilme devido à falta de substantividade.

Este estudo tem limitações que devem ser abordadas. Os participantes constituíram uma amostra de conveniência de estudantes de odontologia, o que limita a extrapolação dos achados para o público em geral.

4. CONCLUSÕES

Apesar dos resultados e dos achados descritos acima, a literatura sobre a aplicação de MEL na cavidade bucal ainda permanece escassa e inconclusiva com relação ao seu uso como complemento ao controle mecânico de biofilme. Embora a tentativa de melhorar a substantividade da MEL usando nanotecnologia pareça ter falhado, o enxaguatório bucal contendo 0,3% de nanopartículas de MEL demonstrou efeitos anti-inflamatórios similares à CHX. Assim, novos ensaios clínicos testando diferentes protocolos e concentrações são necessários para esclarecer a relevância clínica deste produto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALKAWAS, S. et al. Comparative antiplaque and antigingivitis effectiveness of tea tree oil mouthwash and a cetylpyridinium chloride mouthwash: A randomized controlled crossover study. *Contemporary Clinical Dentistry*, 2014.
- BARNETT, M. L. The rationale for the daily use of an antimicrobial mouthrinse. *The Journal of the American Dental Association*, 2006.
- CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T. V. Melaleuca alternifolia (tea tree) oil: A review of antimicrobial and other medicinal properties *Clinical Microbiology Reviews*, 2006.
- ELGENDY, E.; ZINELDEEN, D.; ALI, S.-M. Effect of local application of tea tree (Melaleuca alternifolia) oil gel on long pentraxin level used as an adjunctive treatment of chronic periodontitis: A randomized controlled clinical study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 2013.
- GERRITSEN, A. et al. Tooth loss and oral health-related quality of life: a systematic review and meta-analysis. *Health and Quality of Life Outcomes*, 2010.
- GRIFFITHS, G. S. et al. Associations between volume and flow rate of gingival crevicular fluid and clinical assessments of gingival inflammation in a population of British male adolescents. *Journal of Clinical Periodontology*, 1992.
- LIOLIOS, C. C. et al. Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 2009.
- MOR-REINOSO, C. et al. Inhibition of de novo plaque growth by a new 0.03 % chlorhexidine mouth rinse formulation applying a non-brushing model: a randomized, double blind clinical trial. *Clinical Oral Investigations*, 2016.
- PETERSEN, P. E. Continuous improvement of oral health in the 21st century: the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Zhonghua kou qiang yi xue za zhi = Zhonghua kouqiang yixue zazhi = Chinese journal of stomatology*, 2004.
- RAUT, C.; SETHI, K. Comparative evaluation of co-enzyme Q10 and Melaleuca alternifolia as antioxidant gels in treatment of chronic periodontitis: A clinical study. *Contemporary Clinical Dentistry*, 2016.
- SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. *Periodontology* 2000, 2002.
- SOUKOULIS, S.; HIRSCH, R. The effects of a tea tree oil-containing gel on plaque and chronic gingivitis. *Australian Dental Journal*, 2004.
- TAKARADA, K. et al. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral Microbiology and Immunology*, 2004.
- VAN DER WEIJDEN, G. A.; HIOE, K. P. K. A systematic review of the effectiveness of self-performed mechanical plaque removal in adults with gingivitis using a manual toothbrush. *Journal of Clinical Periodontology*. Anais...2005
- WALMSLEY, A. D. et al. Advances in power driven pocket/root instrumentation. *Journal of Clinical Periodontology*, v. 35, n. 8 Suppl, p. 22–28, set. 2008.