

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**AVALIAÇÃO DE TOLERÂNCIA E SEGURANÇA DE
ESPUMA CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS COM
POTENCIAL PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA
MUCOSITE ORAL – ESTUDO DE FASE I**

Karoline Gomes da Silveira

SAPIENTIA AEDIFICAT

2018

KAROLINE GOMES DA SILVEIRA

**AVALIAÇÃO DE TOLERÂNCIA E SEGURANÇA DE
ESPUMA CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS COM
POTENCIAL PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA
MUCOSITE ORAL – ESTUDO DE FASE I**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Odontologia, da
Universidade Federal da Paraíba, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestra em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Fabio Correia Sampaio

João Pessoa

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

BIBLIOTECÁRIO:

S587a Silveira, Karoline Gomes da.
AVALIAÇÃO DE TOLERÂNCIA E SEGURANÇA DE
ESPUMA CONTENDO
ÓLEOS ESSENCIAIS COM POTENCIAL PARA
PREVENÇÃO E
TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL - ESTUDO DE FASE
I /Karoline Gomes da Silveira. - João Pessoa,
2018.
79 f.
Orientação: Fabio Correia Sampaio.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.
1. Mucosite; Xerostomia; Lippia. I.
Sampaio, Fabio
Correia. II. Título.
UFPB/CCS CDU 616.314 (043)

Elaborado por MARILIA RIANNY PEREIRA COSMOS - CRB-15/862



ATA DA DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DEFESA DE Nº: 234

Aos dez dias do mês de dezembro do ano de 2018, às 08:30 horas, no Auditório do DOR/UFPB, reuniram-se os membros da banca examinadora composta pelos professores doutores: Fabio Correia Sampaio (Orientador e Presidente), Franklin Delano Soares Forte (membro vinculado ao Programa de Pós-graduação em Odontologia – UFPB) e Maria Sueli Marques Soares (membro externo) a fim de argüirem a mestranda Karoline Gomes da Silveira, com relação ao seu trabalho final de curso de mestrado (dissertação), sob o título "AVALIAÇÃO DE TOLERÂNCIA E SEGURANÇA DE ESPUMA CONTENDO ÓLEOS ESSENCIAIS COM POTENCIAL PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL – ESTUDO DE FASE I". Aberta a sessão pelo presidente da mesma, coube a candidata, na forma regimental, expor o tema de sua dissertação, dentro do tempo regulamentar. Em seguida, foi questionado pelos membros da banca examinadora, sendo as explicações necessárias fornecidas e as modificações solicitadas registradas. Logo após, os membros da banca examinadora reuniram-se em sessão secreta, tendo chegado ao seguinte julgamento, que, de público, foi anunciado: 1º Examinador (membro externo): Conceito "Aprovado"; 2º Examinador (membro vinculado ao PPGO): Conceito "Aprovado"; e 3º Examinador (Orientador e Presidente): Conceito "Aprovado". O que resultou em conceito final igual: "APROVADO", o que permite a candidata fazer jus ao título de Mestre em Odontologia. Os documentos utilizados para avaliação da candidata durante o processo aqui descrito apresentam-se como prova documental do mesmo e, como tal, serão anexadas a esta ata para arquivamento. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que será por mim assinada, Raíssa Karen Gomes dos Santos Barboza, do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFPB, pela presidente, pelos demais membros da banca, e pela candidata.

Raíssa K. G. Santa Barboza
Secretária

Maria Sueli N. Soares
1º Examinador – Membro Externo

Franklin Delano Forte
2º Examinador – Membro do PPGO

Fabio Correia Sampaio
3º Examinador – Presidente

Karoline Gomes da Silveira
Candidata

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais e a minha irmã, que de muitas formas me incentivaram e ajudaram para que fosse possível a concretização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Deus por me guiar, iluminar e me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades. Agradeço à Ele todas as vitórias e conquistas alcançadas durante a minha vida.

Agradeço aos meus queridos pais, Fátima e Acácio, e a minha irmã Thycyana, que muitas vezes se doaram e renunciaram aos seus sonhos, para que eu pudesse realizar os meus. Que sempre me motivaram, entenderam as minhas faltas e momentos de afastamento e reclusão e me mostraram o quanto era importante estudar. Quero dizer que essa conquista não é só minha, mas nossa. Tudo que consegui só foi possível graças ao amor, apoio e dedicação que vocês sempre tiveram por mim.

Agradeço muito à Fábio Correia Sampaio. Resumí-lo a meu orientador é muito pouco e tenho certeza de que ele sente a importância que teve e tem para para todos os orientandos. Não só na orientação do trabalho, mas também pelo apoio e cuidado na vida profissional e na vida pessoal. Tenho muito orgulho de citá-lo como um dos responsáveis pela minha formação profissional. Agradeço pela confiança, pelos conselhos e paciência. O senhor é um exemplo de simplicidade, compreensão e competência. Todos que trabalham com o senhor, admiram sua dedicação e amor em tudo que faz. Enfim, vai muito além do que o dever impõe. Aprendemos a trabalhar em grupo e a respeitar o próximo. Agradeço por ter acreditado no meu potencial e por todas as oportunidades que me deu. Meu muito obrigada.

Ao Dawys, por estar sempre presente, sempre torcendo pelo meu êxito e me apoiando em todos os momentos, fáceis ou difíceis. Por toda a paciência, companheirismo, atenção e disponibilidade sempre que precisei. Obrigado pelo apoio, pelo incentivo constante, pela valorização sempre tão entusiasta do meu trabalho, dando-me, desta forma, coragem para ultrapassar a culpa pelo tempo que a cada dia lhe subtraía.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba que, direta ou indiretamente, contribuíram para a minha formação e para a construção deste trabalho.

Ao Prof. Franklin e Profa. Sueli, que para minha alegria e honra aceitaram ser examinadores na banca desta dissertação, pela contribuição nesse trabalho.

Aos meus queridos amigos Amanda, Basílio, Eugênia, Ilky Luíza, Maria Eduarda, pessoas muito especiais, com quem tive a honra de conviver durante a pós-graduação. Agradeço pelos maravilhosos momentos que tivemos juntos. Serei sempre grato a vocês pela amizade verdadeira e por todo apoio. Vocês são exemplos de determinação, força e generosidade.

A todos do LABIAL, em especial Alessandra Estevam, Alexandre e Lílian que colaboraram enormemente para o desenvolvimento deste trabalho. Vocês foram essenciais durante essa jornada e pude, com certeza, aprender muito com vocês durante esse tempo de convívio. Estarei sempre à disposição e na torcida pelo sucesso de cada um de vocês.

Ao Hugo, pelo qual tenho muita estima e admiração, e me propiciou um grande aprendizado, pela assistência, apoio e tempo dedicado durante este trabalho.

Às demais pessoas que contribuíram direta ou indiretamente na elaboração deste trabalho ou participaram da minha vida, e que, por ventura, eu tenha me esquecido de agradecer.

“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é
o desejo de vencer.” – Mahatma Gandhi

RESUMO

Mucosite oral (MO) é um processo inflamatório resultante do efeito adverso citotóxico do tratamento de radioterapia e quimioterapia em pacientes com câncer e tem como manifestação clínica ulcerações dolorosas. Os óleos essenciais (OEs) vêm sendo estudados entre os agentes bioativos com atividade antimicrobiana promissora; entre eles temos a *Lippia sidoides* Cham., que vem sendo utilizada no tratamento de diversas patologias devido a sua ação anti-inflamatória, antioxidante, antifúngica e antibacteriana. Esse trabalho tem como objetivo avaliar as características organolépticas, atividade antimicrobiana e citotoxicidade de uma espuma contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. para prevenção e tratamento de mucosite oral em pacientes saudáveis. É um ensaio clínico, randomizado, intervencionista envolvendo 50 indivíduos saudáveis que foram submetidos à utilização do produto teste à base de *Lippia sidoides* Cham. nas concentrações de 0,5% (G1), 0,5% associado com OEs de *Cymbopogon citratus* 0,3% + *Citrus limon* 0,1% (G2), 0,25% associado com OEs de *Cymbopogon citratus* 0,2% + *Citrus limon* 0,2% (G3), placebo com excipientes sem óleos essenciais (G4) e placebo com excipientes + óleo essencial de *Cymbopogon citratus* + *Citrus limon* (G5). A saliva foi coletada antes e após a utilização dos produtos, diluída a 10^{-1} , 10^{-3} e 10^{-5} e plaqueada nos meios de cultura: BHI Ágar, Ágar Sabouraud, Ágar Mitis Salivarius e Ágar Sal Manitol e realizada a contagem das colônias expressas em UFC/mL. Também foi realizada citologia exfoliativa antes e depois com coloração de Papanicolau e coloração ácido periódico-Schiff (PAS) para avaliação de alterações celulares. Após o uso, o paciente respondeu também um questionário sobre as características organolépticas. A formulação de espuma apresentou uma boa aceitação de aparência e consistência para 100% dos pacientes. O G2 apresentou redução de bactérias com diferença das médias log antes-depois de 0,28 UFC/mL, apresentando diferença estatisticamente significativa em uma utilização do produto por 01 minuto ($p < 0,05$). O grupo 1 apresentou melhor média de aumento de salivação durante o uso do produto com média de 6,9 com diferença estatisticamente significativa entre ele o grupo 5 ($p < 0,05$). O uso tópico da formulação em espuma foi citológico e clinicamente seguro nas três concentrações testadas. Somente a concentração de 0,5% apresentou alteração halo perinuclear estatisticamente significativa. Esses resultados podem ter um impacto importante

no desenvolvimento de terapêutica eficaz, segura e de baixo custo na saúde bucal em pacientes com mucosite e xerostomia.

Palavras-chave: Mucosite; Xerostomia; Lippia

ABSTRACT

Oral mucositis (OM) is an inflammatory process resulting from the cytotoxic adverse effect of treatment of radiotherapy and chemotherapy in patients with cancer and has as clinical manifestation painful ulcerations. The essential oils (EOs) have been studied among the bioactive agents with promising antimicrobial activity; among them we have the *Lippia sidoides* Cham., which has been used in the treatment of several pathologies due to its anti-inflammatory, antioxidant, antifungal and antibacterial action. This work aims to evaluate the organoleptic characteristics, antimicrobial activity and cytotoxicity of a foam containing essential oil of *Lippia sidoides* Cham. for prevention and treatment of oral mucositis in healthy patients. It was a randomized, interventional clinical trial involving 50 healthy individuals who underwent the use of the test product based on *Lippia sidoides* Cham. at 0.5% (G1), 0.5% associated with EO of *Cymbopogon citratus* 0.3% + *Citrus limon* 0.1% (G2), 0.25% associated with EOs of *Cymbopogon citratus* 0.2% + *Citrus limon* 0.2% (G3), placebo with excipients without essential oils (G4) and placebo with excipients + essential oil of *Cymbopogon citratus* + *Citrus limon* (G5). The saliva was collected before and after the use of the products, diluted to 10^{-1} , 10^{-3} and 10^{-5} and plated in the culture media: BHI Agar, Sabouraud Agar, Mitis Salivarius Agar and Manitol Salt Agar and counting the colonies expressed in CFU/mL. Papanicolau staining and Periodic acid-Schiff staining (PAS) were also performed in exfoliative cytology to evaluate cellular alterations before and after use the foam. After use, the patient also answered a questionnaire about the organoleptic characteristics. The foam formulation presented good acceptance of appearance and consistency for 100% of the patients. G2 showed a reduction of bacteria with a difference of log averages before -0.88 CFU / mL, presenting a statistically significant difference in one use of the product for 1 minute ($p < 0.05$). Group 1 presented a better average salivation increase during the use of the product with a mean of 6.9 with a statistically significant difference between him and group 5 ($p < 0.05$). Topical use of the foam formulation was cytologically and clinically safe at the three concentrations tested. Only the concentration of 0.5% presented a statistically significant perinuclear halo change. These results may have a significant impact on the development of effective, safe and low cost oral health therapy in patients with mucositis and xerostomia.

Key words: Mucositis; Xerostomia; Lippia

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BHI: Brain Heart Infusion Broth

CHX: Clorexidina

IL-1: Interleucina-1

MO: Mucosite oral

OEs: Óleos essenciais

OELS: Óleo essencial de *Lippia sidoides*

PAS: Ácido periódico-Schiff

TNF- α : Fator de Necrose Tumoral Alfa

TQ: Tratamento quimioterápico

TR: Tratamento radioterápico

UFC: Unidades formadoras de colônia

UFC/mL: Unidades formadoras de colônia por mL

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Características organolépticas das espumas contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. e grupos placebos

Tabela 02: Características organolépticas durante o uso das espumas contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* cham. e dos placebos

Tabela 03: Características organolépticas após o uso das espumas contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* cham. e dos placebos

Tabela 04: Média das diferenças emparelhadas no meio de cultura BHI Ágar

Tabela 05: Média das diferenças emparelhadas no meio de cultura Sabouraud Ágar

Tabela 06: Média das diferenças emparelhadas no meio de cultura Mitis Salivarius ágar

Tabela 07: Distribuição das alterações citomorfológicas entre antes e depois do uso da espuma na concentração de 0,5%.

Tabela 08: Distribuição das alterações citomorfológicas entre antes e depois do uso da espuma na concentração de 0,5% associado.

Tabela 09: Distribuição das alterações citomorfológicas entre antes e depois do uso da espuma na concentração de 0,25% associado.

Tabela 10: Distribuição das alterações citomorfológicas entre antes e depois do uso da espuma na concentração do placebo 01.

Tabela 11: Distribuição das alterações citomorfológicas entre antes e depois do uso da espuma na concentração do placebo 02.

LISTA DE FIGURAS

Fig.01: Média de escala de aparência.

Fig.02: Média de escala de consistência.

Fig.03: Média de escala de aplicação.

Fig.04: Média de escala de odor.

Fig.05: Média de escala de sabor

Fig.06: Média de escala de aumento de salivação durante o uso do produto.

Fig.07: Média de escala de ardência durante o uso do produto.

Fig.08: Média de escala de refrescância durante o uso do produto.

Fig.09: Média de escala de aumento de salivação após o uso do produto.

Fig.10: Média de escala de ardência após o uso do produto.

Fig.11: Média de escala de refrescância após o uso do produto.

Fig.12: Diferença das médias log de contagem de bactérias antes e depois no meio de cultura BHI ágar.

Fig.13: Diferença das médias log de contagem de bactérias antes e depois no meio de cultura Sabouraud Ágar.

Fig.14: Diferença das médias log de contagem de bactérias antes e depois no meio de cultura Mitis Salivarius Ágar.

Fig.15: Alterações celulares avaliadas em aumento de 40x nas colorações Papanicolau e Ácido periódico-Schiff (PAS). A) Aumento nuclear; B) Cromatina irregular; C) Aumento da relação núcleo/citoplasma; D) Multinucleação; E) Fragmentação nuclear; F) Núcleos picnóticos; G) Halo perinuclear; H) Vacúolos citoplasmáticos; I) PAS negativo (Ausência de glicogênio citoplasmático); J) PAS positivo (Presença de glicogênio citoplasmático).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. CAPÍTULO 1	20
RESUMO:	21
ABSTRACT	23
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	26
1. Considerações Éticas	26
2. Descrição do estudo	26
3. Cálculo amostral	26
4. Critérios de inclusão	26
5. Critérios de exclusão	27
6. Desenvolvimento da espuma	27
7. Coleta de saliva e avaliação antimicrobiana	27
8. Características organolépticas	27
9. Análise estatística	28
RESULTADOS	28
DISCUSSÃO	40
CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	43
3. CAPÍTULO 2	48
RESUMO:	49
ABSTRACT	51
INTRODUÇÃO	52
MATERIAIS E MÉTODOS	53
1. Considerações Éticas	53
2. Descrição do estudo	53
3. Cálculo amostral	54
4. Critérios de inclusão	54
5. Critérios de exclusão	55
6. Desenvolvimento da espuma	55
7. Citologia exfoliativa e coloração	55
8. Procedimento de coloração de Papanicolaou	56
9. Procedimento de coloração de Ácido Periódico de Schiff (PAS)	56

10. Avaliação das lâminas	56
11. Análise estatística	57
RESULTADOS	57
DISCUSSÃO	64
CONCLUSÃO	66
REFERÊNCIAS	66
4. CONSIDERAÇÕES GERAIS	69
5. CONCLUSÃO	70
6. REFERÊNCIAS	70
7. ANEXO A	72
8. APENDICE A	76

1. INTRODUÇÃO

Mucosite oral (MO) é um processo inflamatório resultante do efeito colateral citotóxico do tratamento em pacientes com câncer, radioterapia e quimioterapia, e tem como manifestação clínica ulcerações dolorosas que prejudicam na nutrição devido a dificuldade de mastigação e deglutição, aumento do risco para infecções sistêmicas, comprometendo o tratamento oncológico e também na qualidade de vida (Cheng et al., 2010; Al-Ansari et al., 2015; Koizumi et al., 2017; Prats et al., 2017; Tancharoen et al., 2018).

Sonis propôs uma hipótese para o desenvolvimento e cicatrização das lesões de MO que ocorre em quatro fases interdependentes: uma fase inicial inflamatória/vascular, uma fase epitelial, uma fase ulcerativa/bacteriológica, e uma fase de cicatrização (Sonis, 1998). A fase I, fase inflamatória/vascular acontece imediatamente após a administração da radioterapia e quimioterapia que induz à liberação de citocinas Interleucina-1 (IL-1) e Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) do epitélio (Krenger & Ferrara, 1996; Sonis, 1998). A radiação ionizante também estimula a liberação de citocinas do tecido conjuntivo adjacente. TNF- α e IL-1 podem causar danos teciduais e serem um fator de aceleração e agravante do processo de mucosite. IL-1 estimula uma resposta inflamatória, resultando em aumento da resposta vascular subepitelial, levando assim a um aumento nos níveis locais de agentes citotóxicos (Nagi et al., 2017). Acredita-se que o uso concomitante de radiação e quimioterapia amplifique e prolongue a liberação de citocinas e, assim, aumente ainda mais a resposta inflamatória dos tecidos (Sonis, 1998).

A fase II, epitelial, acontece especialmente com fármacos que afetam a fase S do ciclo celular, como Metotrexato, 5-fluorouracil e Citarabina, causando impacto nas células em divisão do epitélio basal oral, resultando em redução da renovação do epitélio, atrofia e ulceração (Sonis, 1998; Nagi et al., 2017). A fase III, ulcerativa/bacteriológica é a mais sintomática e inicia geralmente uma semana após o início do tratamento para o câncer, ocorrendo geralmente no momento da neutropenia máxima do paciente. É caracterizada por áreas localizadas de erosão em espessura total que ficam cobertas por uma pseudomembrana fibrinosa, com colonização secundária bacteriana que estimula ainda mais a liberação de citocinas

do tecido conjuntivo, agravando mais ainda o quadro do paciente.(Sonis, 1998; Nagi et al., 2017) A fase IV, cicatrização, é caracterizada pela normalização dos leucócitos, proliferação e diferenciação celular, e controle da microbiota oral (Sonis. 1998).

A MO apresenta alta incidência em pacientes em tratamento do câncer, quase todos os pacientes em tratamento radioterápico apresentam lesões de MO e em 89% dos pacientes em tratamento quimioterápico (TQ) e tratamento radioterápico (TR) associados.(Trotti et al., 2003) O custo de internação para pacientes em tratamento quimioterápico é bem elevado, e há um aumento considerável se esses pacientes apresentam lesões de MO, sendo necessárias assim medidas de baixo-custo para prevenção do aparecimento desta patologia nesses pacientes. Neste contexto, o uso dos óleos essenciais podem vir a ser alternativa eficaz. (Elting et al., 2003)

Nesse contexto, os óleos essenciais (OEs) vêm sendo estudado entre os agentes bioativos com atividade antimicrobiana promissora. (Scrimger et al., 2018) Entre estes temos o óleo essencial extraído da planta *Lippia sidoides* Cham, também conhecida como "Alecrim-pimenta", que é nativa da região nordeste do Brasil e norte do estado de Minas Gerais, e que vem sendo utilizada no tratamento de diversas patologias devido a sua ação anti-inflamatória, antioxidante, antifúngica e antibacteriana (Chambers et al., 2004; Bassolé & Juliani, 2012; Eslami et al., 2016). A ação antimicrobiana acontece devido a esta espécie produzir um óleo essencial rico em timol e carvacrol, que tem uma potente atividade antimicrobiana contra fungos e bactéria (Bassolé & Juliani, 2012). Sendo assim, nos propusemos, no presente estudo, avaliar a tolerância e segurança de óleos essenciais, bem como seu uso na prevenção da mucosite oral.

2. CAPÍTULO 1

O manuscrito a seguir intitulado **“Avaliação das características organolépticas e antimicrobiana de espuma contendo óleos essenciais para prevenção e tratamento de mucosite oral”** será submetido para publicação no periódico “Archives of Oral Biology” – Qualis A2, ISSN 0003-9969.

Avaliação das características organolépticas e antimicrobiana de espuma contendo óleos essenciais para prevenção e tratamento de mucosite oral

Silveira KG¹; Dos Santos AE²; Sampaio FC³

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária CEP: 58051-900, João Pessoa-Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos,. Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária CEP: 58051-900, João Pessoa-Brasil.

³Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária CEP: 58051-900, João Pessoa-Brasil. ³Departamento de Clínica e Odontologia Social. Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária CEP: 58051-900, João Pessoa-Brasil.

RESUMO:

Objetivo: Esse trabalho teve como objetivo avaliar as características organolépticas e atividade antimicrobiana de uma espuma contendo óleos essenciais para prevenção e tratamento de mucosite oral. **Materiais e métodos:** É um ensaio clínico, randomizado, intervencionista envolvendo 50 indivíduos saudáveis que foram submetidos à utilização do produto teste à base de *Lippia sidoides* Cham. nas concentrações de 0,5% (G1), 0,5% associado com OEs de *Cymbopogon citratus* 0,3% + *Citrus limon* 0,1% (G2), 0,25% associado com OEs de *Cymbopogon citratus* 0,2% + *Citrus limon* 0,2% (G3), placebo com excipientes sem óleos essenciais (G4) e placebo com excipientes + óleo essencial de *Cymbopogon citratus* + óleo essencial de *Citrus limon* (G5). Saliva foi coletada antes e após a utilização do produto, diluída a 10^{-1} , 10^{-3} e 10^{-5} e plaqueada nos meios de cultura BHI Ágar, Ágar Sabouraud, Ágar Mitis Salivarius e Ágar Sal Manitol e realizada a contagem das colônias expressas em UFC/mL. Após o uso, o paciente respondeu um questionário sobre as características organolépticas. **Resultados:** A formulação de espuma apresentou uma boa aceitação de aparência e consistência para 100% dos pacientes. O grupo 2 apresentou redução de

bactérias com diferença das médias log antes-depois de 0,28 UFC/mL, apresentando diferença estatisticamente significativa em apenas uma utilização do produto por 01 minuto ($p < 0,05$). O grupo 1 apresentou melhor média de aumento de salivação durante o uso do produto com média de 6,9 com diferença estatisticamente significativa entre ele o grupo 5 ($p < 0,05$). **Conclusão:** Esses resultados podem ter um impacto importante no desenvolvimento de terapêutica eficaz, segura e de baixo custo na saúde oral em pacientes com mucosite e xerostomia.

Palavras-chave: Mucosite; Xerostomia; Lippia; Produtos com Ação Antimicrobiana

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to evaluate the organoleptic characteristics and antimicrobial activity of a foam made from essential oil of *Lippia sidoides* Cham. for prevention and treatment of oral mucositis. **Design:** This is a randomized, interventional, clinical trial involving 50 patients who underwent the use of *Lippia sidoides* Cham. 0.5%, 0.5% associated with the essential oil of *Cymbopogon citratus* 0.3% + *Citrus limon* 0.1%, 0.25% associated with the essential oil of *Cymbopogon citratus* 0.2% and *Citrus limon* 0.2%, placebo with excipient and placebo with excipient + essential oil of *Citrus limon* and *Cymbopogon citratus*. Saliva was collected before and after using the product, diluted 10^{-1} , 10^{-3} and 10^{-5} and plated on to Brain Heart Infusion agar, Sabouraud Dextrose agar, Mitis Salivarius agar and Manitol Salt agar and representative colonies were counted in and expressed in CFU / mL. The oral cytology exfoliative before and after using the product. Smears were stained with the Papanicolaou and PAS stain and were examined by pathologist to evaluate cell differences. After use, the patient answered a question about the organoleptic characteristics. **Results:** The foam formulation presented good acceptance of appearance and consistency for 100% of the patients. Group 2 presented a reduction of bacteria with a difference of the mean log before-after 0,28 UFC/ mL, presenting statistically significant difference in only one use of the product for 1 minute ($p < 0.05$). Group 1 presented a better salivation increase during the use of the product with a mean of 6.9 with a statistically significant difference between group 5 ($p < 0.05$). **Conclusions:** These results may have a significant impact on the development of effective, safe and low-cost oral health therapy in patients with mucositis and xerostomia with low-income.

Key words: Mucositis; Xerostomia; Lippia; Products with Antimicrobial Action.

INTRODUÇÃO

Mucosite oral (MO) é um processo inflamatório resultante do efeito colateral citotóxico do tratamento em pacientes com câncer, tendo como característica eritema, atrofia, erosão e úlcera da mucosa oral (Al-Ansari et al., 2015; Prats et al., 2017). Essas ulcerações são tipicamente dolorosas, consequentemente, necessitam de terapias analgésicas, prejudicam na nutrição devido a dificuldade de mastigação e deglutição e também na qualidade de vida (Cheng et al., 2010; Koizumi et al., 2017; Tancharoen et al., 2018). Além disso, essa ruptura da integridade da barreira epitelial, característica nas ulcerações da MO, representa um expressivo fator de risco para infecções sistêmicas, principalmente nos pacientes imunocomprometidos, podendo levar a descontinuação no tratamento oncológico (Al-Ansari et al., 2015).

A MO apresenta alta incidência, 97%, em pacientes em TR e 89% em pacientes em TQ e TR associados (Trotti et al., 2003). Estudos relatam que o custo médio de internação para pacientes com MO é bem elevados, comparados aos pacientes sem essas lesões, sendo necessários assim medidas de baixo custo como os óleos essenciais para prevenir o aparecimento de MO, ajudando a diminuir os custos hospitalares nesses pacientes, já que apresenta uma taxa de incidência bastante elevada entre os pacientes submetidos ao tratamento para câncer (Elting et al., 2003).

Embora atualmente ainda não exista um método definido para a prevenção e tratamento da MO (Stokman et al., 2006), várias intervenções como anestésicos tópicos, antimicrobianos, analgésicos, higiene oral, diversos enxaguantes bucais, laserterapia, difenidramina são utilizadas (Saunders et al., 2013; Saito et al., 2014; Soares et al., 2018). Dessa forma, um protocolo deve ser estabelecido utilizando novas terapias para melhorar a qualidade de vida desses pacientes.

Outra complicação muito comum associada ao tratamento quimioterápico e radioterápico desses pacientes é a hipossalivação, que é a sensação subjetiva de boca seca que pode ser devido a danos nas glândulas salivares que ocorrem em quase todos os pacientes tratados com radioterapia (Scrimger et al., 2018). A hipossalivação é associada ao aumento da cárie dentária, dificuldade na

mastigação, deglutição, e problemas de fala, bem como maior incidência de candidíase (Chambers et al., 2004). Assim, a diminuição na taxa de fluxo salivar é um fator que aumenta o risco de mucosite oral (Eslami et al., 2016).

Os óleos essenciais (OEs) vêm sendo estudado entre os agentes bioativos com atividade antimicrobiana promissora (Bassolé & Juliani, 2012). Entre estes temos o óleo essencial extraído da planta *Lippia sidoides* Cham, também conhecida como "Alecrim-pimenta", que é nativa da região nordeste do Brasil e norte do estado de Minas Gerais, e que vem sendo utilizada no tratamento de diversas patologias devido a sua ação anti-inflamatória, antioxidante, antifúngica e antibacteriana (Botelho et al., 2007; Fontenelle et al., 2007; Vázquez-Sánchez et al., 2018). A ação antimicrobiana acontece devido a esta espécie produzir um óleo essencial rico em timol e carvacrol, que têm uma potente atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias (Botelho et al., 2007).

Os mecanismos de ação antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia sidoides* ainda não estão bem esclarecidos. Entretanto, acredita-se que o mecanismo de ação do carvacrol e timol em biofilmes seja devido a sua natureza anfipática. A sua parte hidrofílica permitiria sua difusão através da matriz polissacarídica, enquanto as propriedades hidrofóbicas predominantes destes compostos poderiam levar a interações específicas com a membrana da bactéria causando a dispersão das cadeias polipeptídicas da membrana celular e afetando a sua estabilidade (Soumya et al., 2011)

Apesar do progresso da pesquisa nessa área, ainda há poucos estudos com OEs com aplicação no campo da odontologia. Normalmente, algumas substâncias desta classe têm sido utilizadas em formulações evitando formação de biofilme e para evitar gengivite (Preus et al., 2013; Van Leeuwen et al., 2014) por isso existe a necessidade de mais estudos utilizando OEs com possível uso potencial para pacientes apresentando mucosite e xerostomia. Esse trabalho teve como objetivo avaliar as características organolépticas e a atividade antimicrobiana de uma espuma contendo óleo essencial de *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus* e *Citrus limon* para prevenção e tratamento de mucosite oral.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Considerações Éticas

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal da Paraíba e aprovado pelo protocolo CAAE 83179618.8.0000.5188 com o parecer 2.839.183 (ANEXO A).

2. Descrição do estudo

Trata-se de um ensaio clínico, duplo-cego, randomizado, intervencionista, longitudinal envolvendo indivíduos saudáveis. A população do estudo foi composta de 50 indivíduos adultos de ambos os sexos, divididos em 5 grupos que foram submetidos à utilização do produto teste à base de *L. sidoides* Cham. nas concentrações de 0,5% (G1), 0,5% associado óleo essencial de *Cymbopogon citratus* 0,3% + óleo essencial de *Citrus limon* 0,1% (G2), 0,25% associado óleo essencial de *Cymbopogon citratus* 0,2% + Óleo essencial de *Citrus limon* 0,2% (G3), além do grupo onde os indivíduos receberam o placebo excipientes sem óleos essenciais (G4) e placebo excipientes + óleo essencial de *Cymbopogon citratus* + óleo essencial de *Citrus limon* (G5).

3. Cálculo amostral

Utilizando o teste ANOVA, onde k são os 5 grupos estudados (concentrações de 0,5%, 0,5% associado, 0,25% associado, além dos dois grupos placebos), utilizando 50 pacientes, com 10 participantes em cada grupo, obtivemos o poder de 90%, com uma significância de 0,05.

4. Critérios de inclusão

- a. Voluntários saudáveis;
- b. Voluntários maiores de 18 anos;
- c. Voluntários que aceitaram participar do estudo.

5. Critérios de exclusão

- a. Voluntários com alterações sistêmicas;
- b. Voluntários com xerostomia;
- c. Voluntários com alergia aos óleos essenciais *Lippia sidoides* Cham., *Cymbopogon citratus* e *Citrus limon*;
- d. Voluntários apresentando lesões em cavidade oral;
- e. Voluntários em tratamento antibiótico;
- f. Voluntários fazendo uso de colutórios com substâncias antimicrobianas;

6. Desenvolvimento da espuma

A metodologia de desenvolvimento da espuma seguiu a patente de processo de nº BR 10 2018 016386 8, datada de 22/07/2018.

7. Coleta de saliva e avaliação antimicrobiana

Os participantes do estudo foram alocados nos grupos por sorteio e a coleta da saliva foi realizada previamente e 30 minutos após a utilização dos produtos. A aplicação do produto e as coletas foram realizadas no Consultório Odontológico do Laboratório de Biologia bucal (LABIAL/UFPB). A espuma foi aplicada uma única vez, em um recipiente de 10mL padronizado, em toda a mucosa jugal do paciente durante 01 minuto, e após o paciente cuspiu o excesso do produto. Para coleta da saliva foi utilizado o método da expectoração ou “método do cuspe” que é utilizado para medição do fluxo salivar, através da saliva que é expelida e coletada em um tubo graduado. Para isto, após secagem da boca com gaze estéril, o voluntário permaneceu durante três minutos sem deglutir e ao final expeliu toda a saliva armazenada na boca em um tubo coletor estéril. A saliva coletada antes e após a utilização do produto foi centrifugada por 10 minutos a 5000 rpm e o sobrenadante foi diluído com solução salina 0,9% estéril. As soluções foram diluídas a 10^{-1} , 10^{-3} e 10^{-5} e plaqueadas em BHI Ágar, Ágar Sabouraud, Ágar Mitis Salivarius e Ágar Sal Manitol e então incubadas a 37°C por 24h para verificação do crescimento bacteriano através da contagem das colônias expressas em UFC/mL.

8. Características organolépticas da espuma e efeito adverso

Os participantes da pesquisa foram instruídos a preencher um questionário sobre as características organolépticas do produto testado (Apêndice A). Foram

avaliadas: aparência, consistência, aplicação, sabor e odor do produto, se o produto causou aumento de salivação, ardência, dor, dormência, refrescância, náusea ou outras alterações durante ou após o uso do produto.

9. Análise estatística

Os dados sobre as características organolépticas, as variáveis quantitativas, foram inicialmente analisadas pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, a fim de verificar a normalidade dos dados da distribuição. Para estatística descritiva, calculou-se a média e o desvio-padrão (dados paramétricos) e comparados os grupos através do ANOVA e teste de Tukey.

Os dados sobre o número de Unidades formadoras de colônias (UFC) foram processados inicialmente para homogeneizar as variâncias e tornar a distribuição mais próxima da normalidade. Para este fim, usamos uma transformação logarítmica como a seguinte equação: $y = \log_{10}(x) = \log(x)$. Variáveis quantitativas, contínuas e discretas, foram inicialmente analisadas pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, a fim de verificar a normalidade dos dados da distribuição. Para estatística descritiva, calculou-se a média e o desvio-padrão (dados paramétricos) ou médios, intervalo interquartilico e valores mínimos e máximos (dados não-paramétricos). As comparações entre o antes e depois foram feitas usando o Teste T pareado (dados paramétricos). Em todos os casos, o nível de significância foi fixado em 0,05 (5%), sendo considerado estatisticamente significativo p menor que 0,05. Os dados foram analisados utilizando o software SPSS 22.

RESULTADOS

Quanto às características organolépticas da espuma empregada neste estudo, foi observado que o grupo 2 apresentou melhor média na aparência do produto (Fig.01). Porém, não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos (Tabela 01).

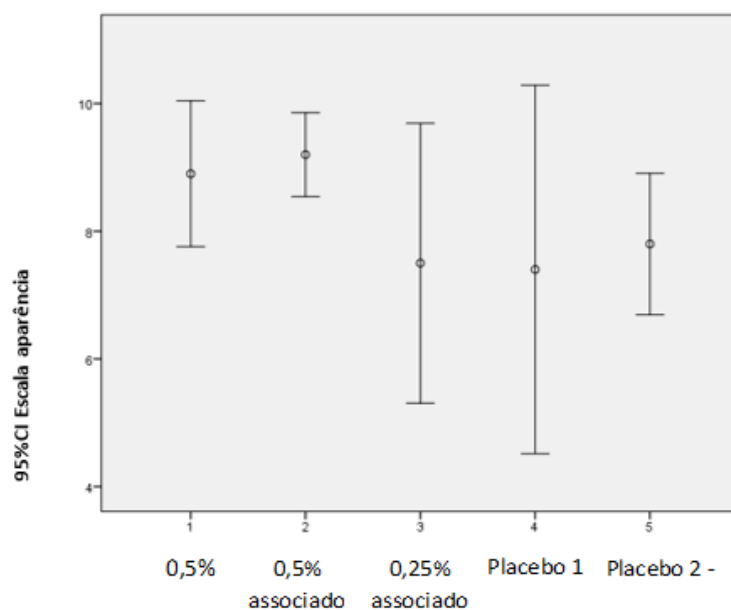


Fig.01: Pontuação escala de aparência física do produto analisado.

O produto do grupo 2 apresentou maior valor na escala da consistência (Fig.02). Porém, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Tabela 01).

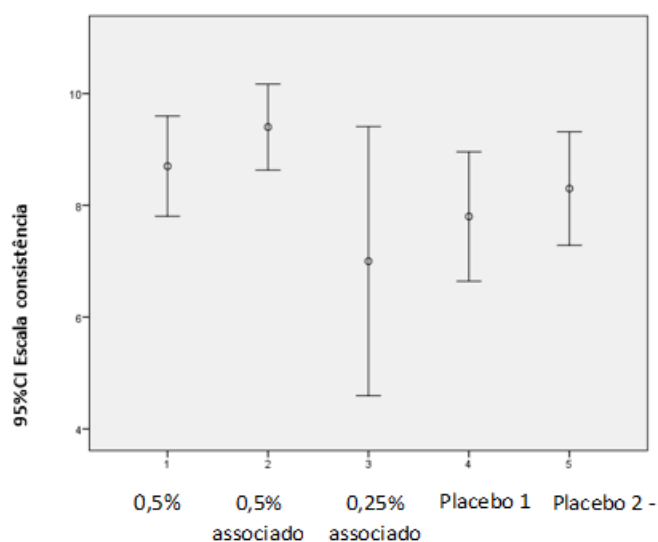


Fig.02: Pontuação de escala de consistência do produto analisado.

Na comparação entre os grupos, não houve diferença estatisticamente significativa dos valores médios das escalas de análises da aplicação dos produtos

estudados. (Fig.03 e Tabela 01). 100% dos participantes relataram que os produtos apresentavam boa consistência, boa aparência e fácil aplicação.

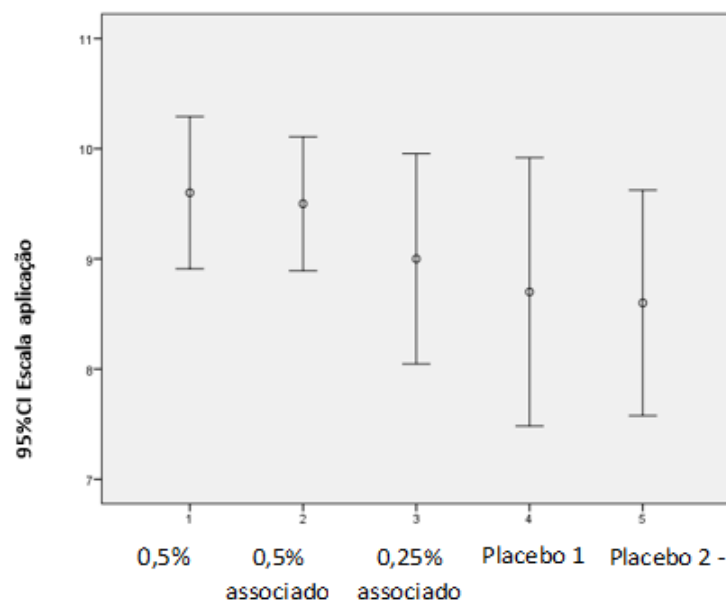


Fig.03: Média da pontuação escala facilidade de aplicação dos produtos analisados.

O grupo 2 apresentou melhor média de odor do produto (Fig.04). Porém, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Tabela 01).

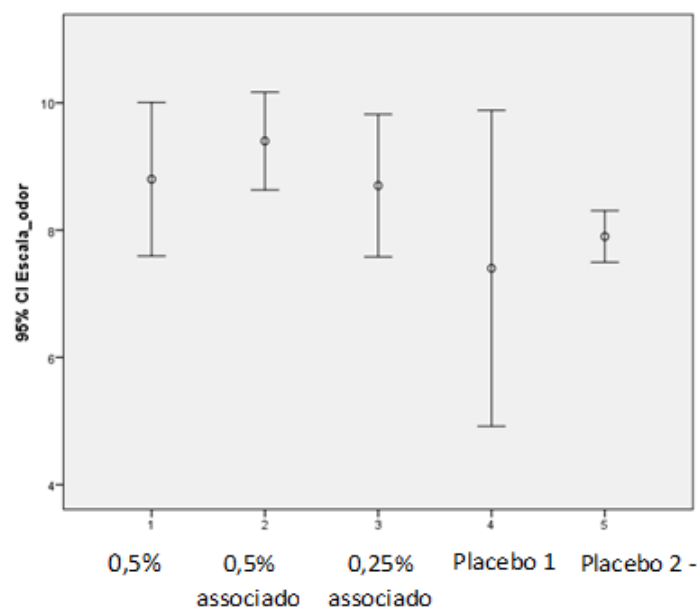


Fig.04: Pontuação média de escala de odor dos produtos analisados.

O grupo 3 apresentou melhor média de sabor do produto (Fig.05). Porém, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos comparando o sabor do produto (Tabela 01).

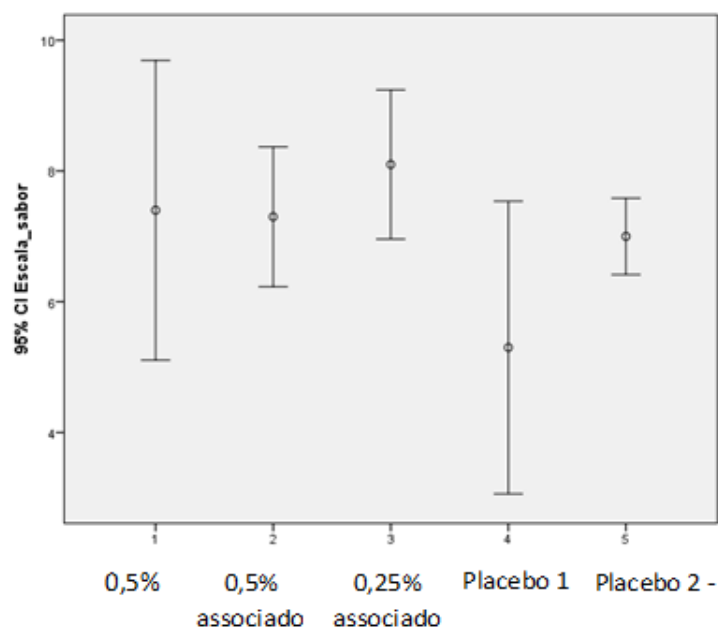


Fig.05: Média da pontuação de escala de sabor

Tabela 01: Características organolépticas das espumas contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. e grupos placebos

	0,5% (G1)	0,5% associado (G2)	0,25% associado (G3)	Placebo 1 (G4)	Placebo 2 (G5)
Aparência	8,9 ± 1,59	9,2 ± 0,91	7,5 ± 3,06	7,4 ± 4,03	7,8 ± 1,54
Consistência	8,7 ± 1,25	9,4 ± 1,07	7,0 ± 3,36	7,8 ± 1,61	8,3 ± 1,41
Aplicação	9,6 ± 0,96	9,5 ± 0,85	9,0 ± 1,33	8,7 ± 1,70	8,6 ± 1,43
Odor	8,8 ± 1,68	9,4 ± 1,07	8,7 ± 1,56	7,4 ± 3,47	7,9 ± 0,56
Sabor	7,4 ± 3,02	7,3 ± 1,49	8,10 ± 1,59	5,3 ± 3,12	7,0 ± 0,81

O grupo 1 apresentou melhor média de aumento de salivação durante o uso do produto (Fig.06). Houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo 1 e o grupo 5 ($p < 0,05$) (Tabela 02).

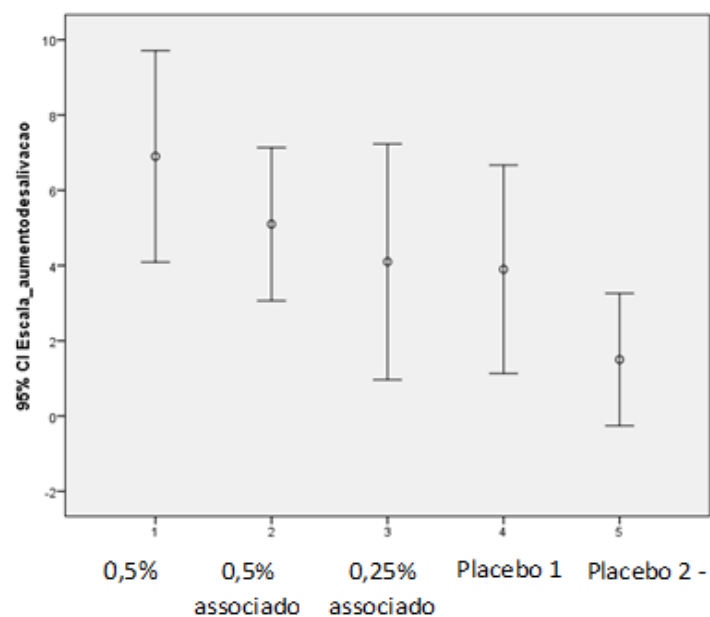


Fig.06: Média de escala de aumento de salivacão durante o uso do produto.

Na espuma com concentração de 0,5% o nível médio da escala de ardência durante o uso do produto foi de 4,6. Na concentração de 0,5% associado a outros óleos essenciais o nível médio foi de 7,5, na concentração de 0,25% a média foi de 4,5, no grupo placebo 1 a média foi de 0,0 e no placebo 2 foi de 0,3. A espuma placebo 1 apresentou melhor média de ardência durante o uso do produto (Fig.07 e Tabela 02).

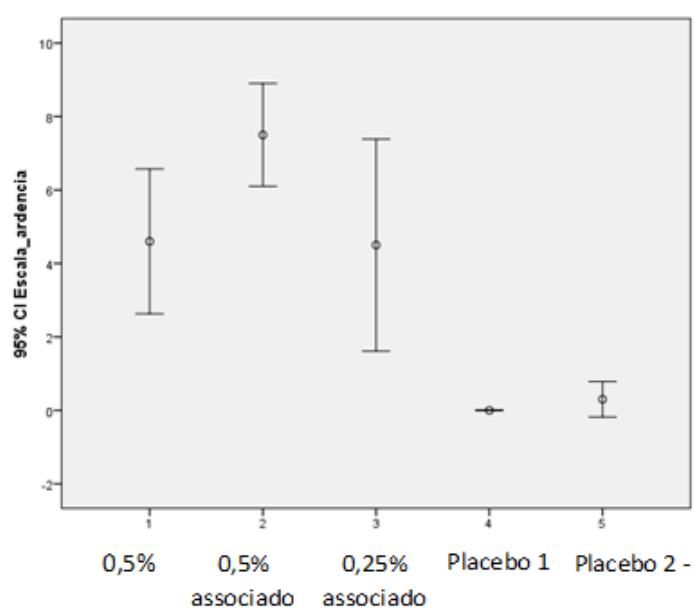


Fig.07: Média de escala de ardência durante o uso do produto.

Nenhum dos participantes apresentou dor, náusea ou outros aspectos durante o uso do produto. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos do óleo essencial e os placebos quanto à dormência durante o uso do produto (Tabela 02).

Houve diferença estatisticamente significativa entre a refrescância em todos grupos contendo óleo essencial de *Lippia sidoide* e o placebo 2 (Fig.08 e Tabela 02).

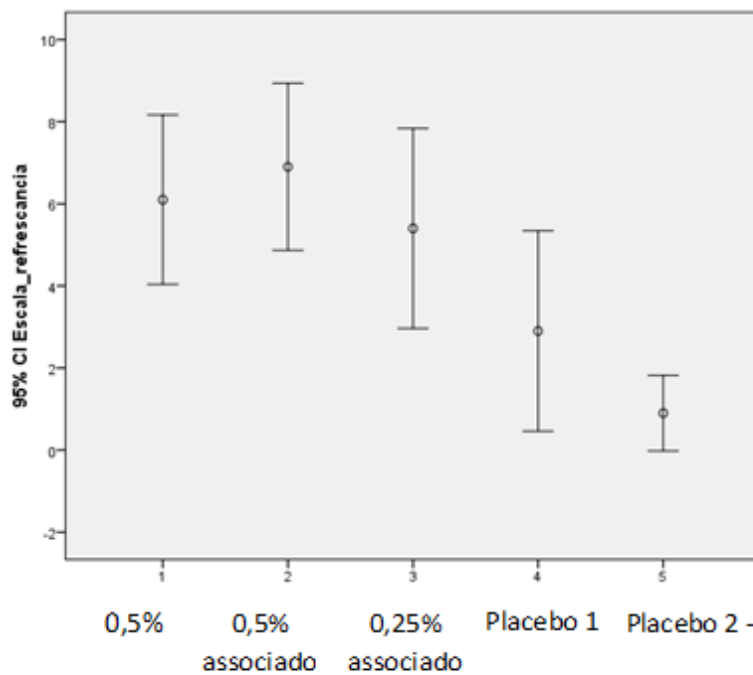


Fig.08: Pontuação na escala de refrescância durante o uso do produto.

Tabela 02: Características organolépticas avaliadas durante o uso das espumas contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* cham. e dos placebos

	0,5% (G1)	0,5% associado (G2)	0,25% associado (G3)	Placebo 1 (G4)	Placebo 2 (G5)
Aumento de salivação	6,9 ± 3,92 ^a	5,1 ± 2,84	4,10 ± 4,38	3,9 ± 3,87	1,5 ± 2,46 ^a
Ardência	4,6 ± 2,75 ^a	7,5 ± 1,95 ^b	4,5 ± 4,03 ^c	0,0 ± 0,0 ^{abc}	0,30 ± 0,67 ^{abc}
Dor	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Dormência	0,3 ± 0,67	0,5 ± 1,58	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Refrescância	6,1 ± 2,88 ^a	6,9 ± 2,84 ^b	5,4 ± 3,40 ^c	2,9 ± 3,41 ^b	0,9 ± 1,28 ^{abc}
Naúsea	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

Letras minúsculas indicam diferenças entre grupos, ANOVA $p < 0,05$

O grupo 1 apresentou melhor média de aumento de salivação após o uso do produto entre os grupos com óleo essencial de *Lippia sidoides* (Fig.09). Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com óleo essencial de *Lippia sidoides* e o placebo 2 (Tabela 03).

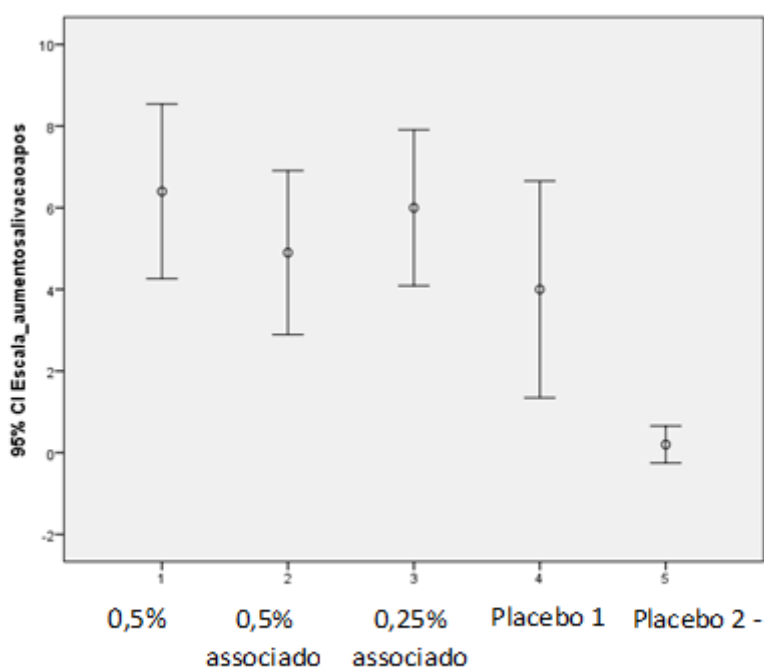


Fig.09: Média de escala de aumento de salivação após o uso do produto.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos com óleo essencial de *Lippia sidoides* e os placebos quanto à ardência após o uso do produto ($p < 0,05$) (Fig.10 e Tabela 03).

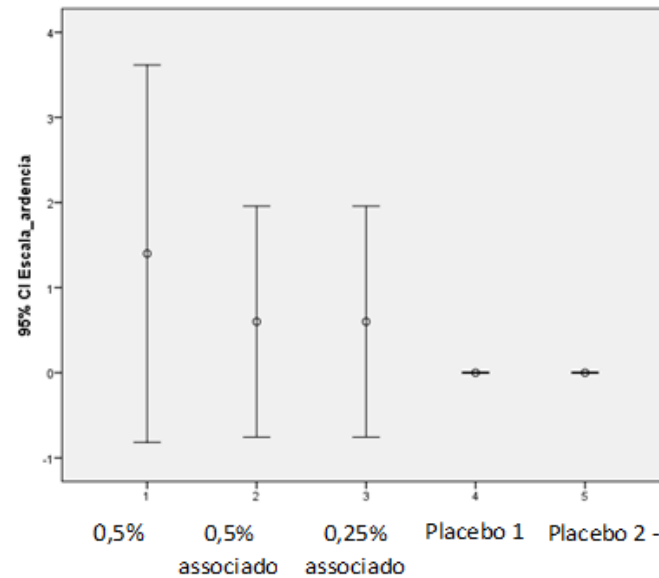


Fig.10: Média de escala de ardência após o uso do produto.

Nenhum dos participantes apresentou dor ou náusea após o uso do produto. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos do óleo essencial de *Lippia sidoides* e os placebos quanto a dormência após o uso do produto. Um paciente relatou azia após o uso do produto com concentração de 0,5% (Tabela 03).

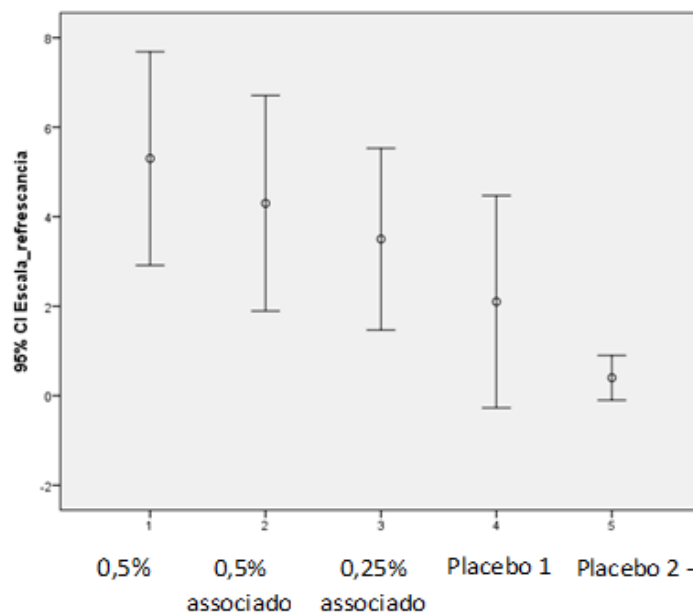


Fig.11: Média de escala de refrescância após o uso do produto.

O grupo 1 apresentou melhor refrescância após o uso do produto (Fig. 11). Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos 1 e 2 e o grupo 5 (Tabela 03).

Tabela 03: Características organolépticas após o uso das espumas contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* cham. e dos placebos

	0,5% (G1)	0,5% associado (G2)	0,25% associado (G3)	Placebo 1 (G4)	Placebo 2 (G5)
Aumento de salivação	6,4 ± 2,98 ^a	4,9 ± 2,80 ^b	6,0 ± 2,66 ^c	4,0 ± 3,71 ^d	0,20 ± 0,63 ^{abcd}
Ardência	1,4 ± 3,09	0,6 ± 1,89	0,6 ± 1,89	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Dor	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Dormência	0,2 ± 0,42	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,94	0,0 ± 0,0
Refrescância	5,3 ± 3,33 ^a	4,30 ± 3,36 ^b	3,50 ± 2,83	2,10 ± 3,31	0,4 ± 0,69 ^{ab}
Naúsea	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

Letras minúsculas indicam diferenças entre grupos, ANOVA $p < 0,05$

Na espuma com concentração de 0,5% associado houve redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) da contagem de microorganismos (UFC/mL) no meio de cultura BHI Ágar. Enquanto que no grupo placebo 2 e na concentração de 0,25% associado, houve aumento na contagem. (Tabela 04 e Fig.12)

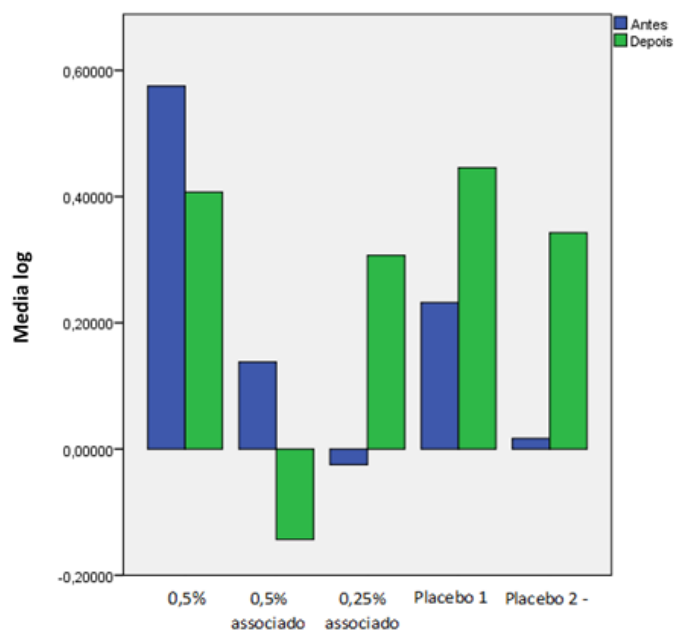


Fig.12: Diferença das médias log de contagem de bactérias antes e depois no meio de cultura BHI ágar.

Tabela 04: Média das diferenças emparelhadas no meio de cultura BHI Ágar

Diferenças emparelhadas no meio BHI Ágar							
Produto	Diferença das médias log antes-depois UFC/mL	Desvio padrão	Erro padrão	95% Intervalo de confiança da diferença		t	sig
				Inferior	Superior		
0,5% (G1)	0,16	0,46	0,14	-0,162	0,499	1,14	0,280
0,5 associado (G2)	0,28	0,32	0,10	0,491	0,513	2,74	0,023
0,25 associado (G3)	-0,33	0,50	0,15	-0,689	0,026	-2,094	0,066
Placebo 1 (G4)	-0,21	0,44	0,14	-0,530	0,103	-1,52	0,162
Placebo 2 (G5)	-0,32	0,43	0,13	-0,640	-0,011	-2,34	0,044

Nas espumas com óleo essencial de *Lippia sidoides* houve redução da contagem de microorganismos (UFC/mL) no meio de cultura Sabouraud Ágar, mas não foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). (Fig.13 e Tabela 05)

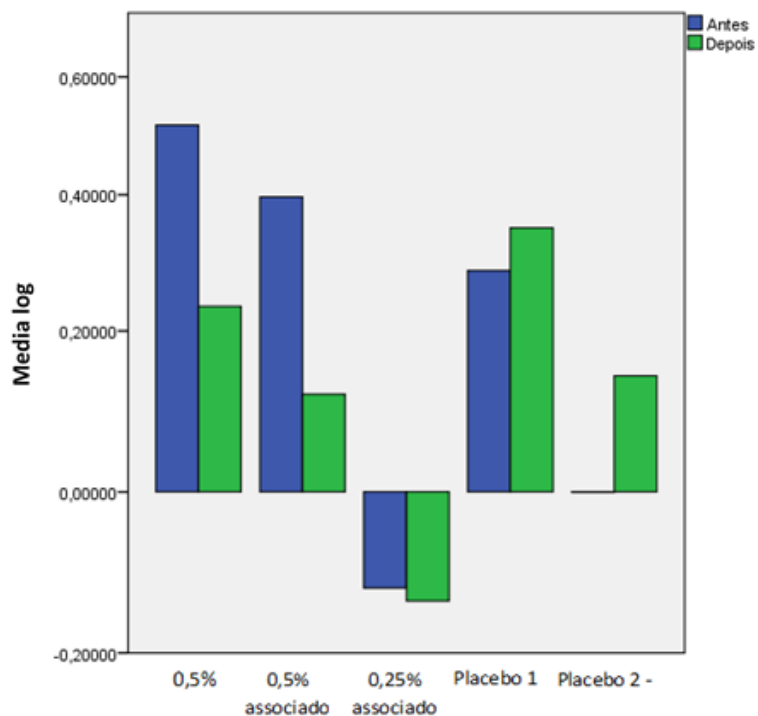


Fig.13: Diferença das médias log de contagem de bactérias antes e depois no meio de cultura Sabouraud Ágar

Tabela 05: Média das diferenças emparelhadas no meio de cultura Sabouraud Ágar

Diferenças emparelhadas no meio Sabouraud Ágar							
Produto	Diferença das médias log antes – depois UFC/mL	Desvio padrão	Erro padrão da média	95% Intervalo de confiança da diferença		t	sig
				Inferior	Superior		
0,5% (G1)	0,28	0,64	0,20	-0,18	0,74	1,37	0,20
0,5 associado (G2)	0,27	0,48	0,15	-0,06	0,62	1,81	0,10
0,25 associado (G3)	0,01	0,48	0,15	-0,33	0,36	0,10	0,91
Placebo 1 (G4)	-0,06	0,37	0,11	-0,33	0,20	-0,53	0,60
Placebo 2 (G5)	-0,14	0,49	0,15	-0,49	0,21	-0,90	0,39

No grupo 1 e 2 houve redução da contagem de microorganismos (UFC/mL) no meio de cultura Mitis Salivarius ágar, mas não foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). (Tabela 06 e Fig.14)

Os resultados no meio de cultura Ágar Sal Manitol não puderam ser calculados, devido ao pouco crescimento em todos os grupos.

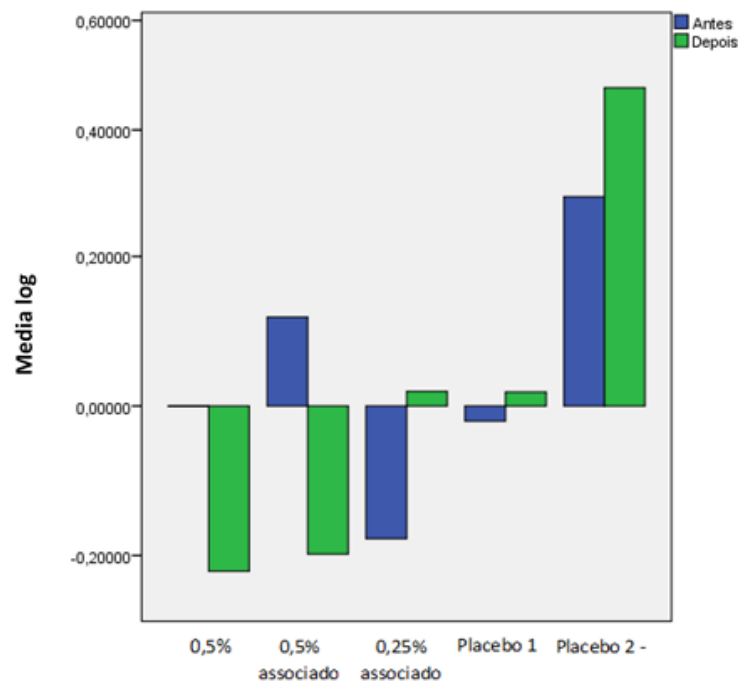


Fig.14: Diferença das médias log de contagem de bactérias antes e depois no meio de cultura Mitis Salivarius Ágar

Tabela 06: Média das diferenças emparelhadas no meio de cultura Mitis Salivarius ágar

Diferenças emparelhadas no meio Mitis Salivarius ágar							
Produto	Diferença das médias log antes-depois UFC/mL	Desvio padrão	Erro padrão da média	95% Intervalo de confiança da diferença		t	sig
				Inferior	Superior		
0,5% (G1)	0,22	0,79	0,25	-0,34	0,79	0,88	0,40
0,5 associado (G2)	0,31	0,50	0,16	-0,05	0,67	1,93	0,08
0,25 associado (G3)	-0,19	0,57	0,18	-0,60	0,22	-1,05	0,31
Placebo 1 (G4)	-0,03	0,41	0,13	-0,33	0,25	-0,27	0,79
Placebo 2 (G5)	-0,18	0,29	0,09	-0,39	0,03	-1,94	0,08

DISCUSSÃO

O uso do óleo essencial de *Lippia sidoides* (OELS) pode ser benéfico na prevenção e tratamento da mucosite oral, visto que tem sabor e odor aceitáveis, é

de fácil aplicação, não é invasivo, não apresenta efeitos colaterais e é interessante devido ao seu baixo custo. Um estudo realizado sobre a ação antibacteriana de óleos essenciais do Nordeste brasileiro evidenciou que OEELS apresenta ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*; entretanto, *Pseudomonas aeruginosa* mostrou resistência à ação deste óleo essencial (Bertini et al., 2005).

Há poucos estudos na literatura sobre a eficácia das formulações de OEELS e nenhum deles avaliou sua formulação em espuma. Nesse estudo testamos a formulação em espuma nas concentrações de 0,5%, 0,5% e 0,25% associados a outros óleos essenciais. Quanto às características organolépticas, a formulação do tipo espuma apresentou boa aceitação pelos participantes, onde 100% relataram que a espuma apresentava boa aparência e boa consistência. Consistência do produto para pacientes com mucosite oral apresenta um papel importante, devido ao conforto para aplicação nas ulcerações que são geralmente dolorosas nesses pacientes.

Pacientes submetidos à radioterapia apresentam redução do fluxo salivar como efeito adverso. Estudos apontam que uma diminuição na taxa de fluxo salivar é um fator que aumenta o risco de mucosite oral (Eslami et al., 2016). A concentração de 0,5% apresentou melhor resultado de aumento de salivação durante e após o uso do produto. A redução do fluxo salivar leva ao desconforto, disfagia, dificuldade na deglutição, na mastigação e fala, disgeusia, aumento do risco de cárie dentária e mudanças na microbiologia bucal (Jellema et al., 2001). Dessa forma, um aumento de salivação nesses pacientes pode minimizar os danos causados pela mucosite oral, aliviar todas essas queixas e melhorar a qualidade de vida. Nenhum estudo clínico atualmente presente na literatura avaliou o aumento de salivação associado com o OEELS.

Pacientes com mucosite oral apresentam maior risco a infecções sistêmicas, principalmente pacientes imunocomprometidos, devido às ulcerações que causam ruptura da integridade da barreira epitelial, podendo levar a descontinuação no tratamento oncológico (Al-Ansari et al., 2015). Assim, é necessário o uso de substâncias antimicrobianas com finalidade de evitar infecções. A espuma contendo o óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. apresentou atividade

antimicrobiana, após uma aplicação do produto, melhor resultado foi observado na concentração de 0,5% associado aos outros óleos essenciais.

Poucos estudos clínicos são relatados na literatura avaliando atividade antibacteriana e antifúngica utilizando óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. em humanos e nenhum deles utiliza a formulação em espuma e não faz em associação do OELS com outros óleos essenciais (Botelho et al., 2009; Lobo et al., 2011; Lobo et al., 2014). Lobo et al. avaliaram 81 crianças utilizando o OELS nas formulações de: creme dental a 1.4%, gel a 1.4% e colutório a 0.8%, concluindo que houve diferença nos níveis *Streptococcus mutans* medidos em diferentes dias do tratamento apenas para o creme dental. Não há relatos na literatura de estudos utilizando a formulação de espuma com OELS (Lobo et al.; 2014).

Lobo et al, utilizaram as concentrações de 0.8%, 1%, 1.2% e 1.4% na formulação em gel aplicando por 04 minutos e 0.6%, 0.8%, 1% e 1.2% na formulação de colutório aplicando por 01 minuto. Como resultado, obteve-se que a melhor concentração de *Lippia sidoides* Cham. para testes in vivo foi de 0,8% para formulação de colutório e 1,4% para gel, concluindo que OELS foi potencialmente eficaz na sua ação antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* (Lobo et al., 2011). No nosso estudo encontramos ação antimicrobiana estatisticamente significativa na concentração de 0,5% associado com *Cymbopogon citratus* e *Citrus limon*, diminuindo assim sua concentração e assim o custo da fabricação do produto.

Outro estudo foi realizado utilizando enxaguatório bucal contendo o óleo essencial de *Lippia sidoides* com concentração de 1% durante 07 dias. Foi observado que um ciclo de tratamento de 7 dias reduziu significativamente a contagem de *Streptococcus mutans* e os índices periodontais, porém 44% dos pacientes apresentaram sensação de queimação, 22% apresentaram alteração do paladar, 01 paciente apresentou descamação da mucosa e 02 pacientes apresentaram náuseas. Foi observado nesse estudo que a maior concentração dos óleos essenciais está associada a uma sensação de ardência durante e após o uso do produto, então quanto menor a concentração utilizada, capaz de manter sua ação antimicrobiana, melhor será a aceitação pelo paciente. Não houve relatos de náusea durante e após o uso do produto em nenhuma das concentrações. Foi demonstrado que a concentração de 0,5% associado apresentou um bom resultado

antimicrobiano, apresentando, porém, sensação de ardência transitória. Essa sensação pode estar relacionada com os componentes do óleo essencial Timol e Cavacrol (Botelho et al., 2009).

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados do presente estudo, pôde concluir que a formulação de espuma contendo *Lippia sidoides* Cham. apresentou uma boa aceitação de aparência e consistência. A concentração de 0,5% associado apresentou redução de bactérias de forma estatisticamente significativa após uma única aplicação do produto por um minuto.

Futuros estudos prospectivos de longo prazo com uma amostra maior e com um tempo de utilização maior estão sendo planejados para confirmar esses achados. Esses resultados podem ter um impacto importante no desenvolvimento de terapêutica eficaz e economicamente viável, visando contribuir para uma melhor saúde bucal em pacientes com mucosite e hipossalivação.

REFERÊNCIAS

- Al-Ansari, S., Zecha, J.A., Barasch, A., De Lange, J., Rozema, F.R., & Raber-Durlacher, J.E. (2015). Oral mucositis induced by anticancer therapies. *Curr Oral Health Rep*, 2, 202–211.
- Babich, H., & Babich, J.P. (1997). Sodium lauryl sulfate and triclosan: in vitro cytotoxicity studies with gingival cells. *Toxicology Letters*, 91, 189–196.
- Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012). Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. *Molecules*, 17, 3989–4006.
- Bertini, L.M., Pereira, A.F., Oliveira, C.L.L., Menezes, E.A., Moraes, S.M., Cunha, F.A., & Cavalcanti, E.S.B. (2005). Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. *Infarma* 17, 80–83.

Botelho, M. A., Nogueira, N. A. P., Bastos, G. M., Fonseca, S. G. C., Lemos, T. L. G., Matos, F. J. A., Montenegro, D., Heukelbach, J., Rao, V.S., & Brito, G. A. C. (2007). Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40, 349–356.

Botelho, M. A., Santos, R. A. dos, Martins, J. G., Carvalho, C. O., Paz, M. C., Azenha, C., Ruela, R.S., Queiroz, D.B., Ruela, W.S., Marinho, G., & Ruela, F. I. (2009). Comparative effect of an essential oil mouthrinse on plaque, gingivitis and salivary *Streptococcus mutans* levels: a double blind randomized study. *Phytotherapy Research*, 23, 1214–1219.

Brown, R. S., Smith, L., & Glascoe, A. L. (2018). Inflammatory reaction of the anterior dorsal tongue presumably to sodium lauryl sulfate within toothpastes: a triple case report. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 125, e17–e21.

Chambers, M. S., Garden, A. S., Kies, M. S., & Martin, J. W. (2004). Radiation-induced Xerostomia in patients with head and neck cancer: Pathogenesis, impact on quality of life, and management. *Head & Neck*, 26, 796–807.

Cheng, K.K., Leung, S.F., Liang, R.H., Tai, J.W., Yeung, R.M., & Thompson, D.R. (2010). Severe oral mucositis associated with cancer therapy: impact on oral functional status and quality of life. *Support Care Cancer*, 18, 1477–1485.

Elting, L.S., Cooksley, C., Chambers, M., Cantor, S.B., Manzullo, E., & Rubenstein, E.B. (2003). The burdens of cancer therapy. Clinical and economic outcomes of chemotherapy-induced mucositis. *Cancer*, 98, 1531–1539

Eslami, H., Pouralibaba, F., Falsafi, P., Bohluli, S., Najati, B., Negahdari, R., & Ghanizadeh, M. (2016). Efficacy of Hypozalix spray and propolis mouthwash for prevention of chemotherapy-induced oral mucositis in leukemic patients: A double-blind randomized clinical trial. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 10, 226–233.

Fontenelle, R. O. S., Morais, S. M., Brito, E. H. S., Kerntopf, M. R., Brilhante, R. S. N., Cordeiro, R. A., ... Rocha, M. F. G. (2007). Chemical composition,

toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 59, 934–940.

Han, J., Won, E.J., Hwang, U.K., Kim, I.C., Yim, J.H., & Lee, J.S. (2016). Triclosan (TCS) and Triclocarban (TCC) cause lifespan reduction and reproductive impairment through oxidative stress-mediated expression of the defensome in the monogonont rotifer (*Brachionus koreanus*). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 185-186, 131-137.

Herlofson, B.B., & Barkvoll, P. (1993). Desquamative effect of sodium lauryl sulfate on oral mucosa. a preliminary study. *Acta Odontol Scand*, 51, 39-43.

Jellema, A. P., Langendijk, H., Bergenhenegouwen, L., van der Reijden, W., Leemans, R., Smeele, L., & Slotman, B. J. (2001). The efficacy of Xialine® in patients with xerostomia resulting from radiotherapy for head and neck cancer: a pilot-study. *Radiotherapy and Oncology*, 59, 157–160.

Koizumi, R., Azuma, K., Izawa, H, Morimoto, M., Ochi, K., Tsuka, T., Imagawa, T., Osaki, T., Ito, N., Okamoto, Y., Saimoto, H., & Ifuku, S. (2017) Oral administration of surface-deacetylated chitin nanofibers and chitosan inhibit 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. *Int J Mol Sci*, 18, 279.

Lobo, P. L. D., Fonteles, C. S. R., de Carvalho, C. B. M., do Nascimento, D. F., da Cruz Fonseca, S. G., Jamaru, F. V. F., & de Moraes, M. E. A. (2011). Dose–response evaluation of a novel essential oil against *Mutans streptococci* in vivo. *Phytomedicine*, 18, 551–556.

Lobo, P. L. D., Fonteles, C. S. R., Marques, L. A. R. V., Jamaru, F. V. F., Fonseca, S. G. da C., de Carvalho, C. B. M., & de Moraes, M. E. A. (2014). 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*, 21, 1043–1047

Macdonald, J.B., Tobin, C.A., & Hurley, M.Y. (2016). Oral leukoedema with mucosal desquamation caused by toothpaste containing sodium lauryl sulfate. *Cutis*, 97, e4–e5.

Pitten, F.A., Kiefer, T., Buth, C., Doelken, G., & Kramer, A. (2003). Do cancer patients with chemotherapy-induced leukopenia benefit from an antiseptic chlorhexidine-based oral rinse? A double-blind, block-randomized, controlled study. *J Hosp Infect*, 53,283–291.

Prats, P.M., Garcia, F.G., Diaz, F.M., Mendes, R.A., & Lopez-Jornet. P. (2017). The therapeutic effects of apigenin and dexamethasone on 5-fluorouracil-induced oral mucositis—a pilot study using a Syrian hamster model. *J Oral Pathol Med*, 46,142-147.

Preus, H. R., Koldsland, O. C., Aass, A. M., Sandvik, L., & Hansen, B. F. (2013). The plaque- and gingivitis-inhibiting capacity of a commercially available essential oil product. A parallel, split-mouth, single blind, randomized, placebo-controlled clinical study. *Acta Odontologica Scandinavica*, 71, 1613–1619.

Saito, H., Watanabe, Y., Sato, K., Ikawa, H., Yoshida, Y., Katakura, A., ... Sato, M. (2014). Effects of professional oral health care on reducing the risk of chemotherapy-induced oral mucositis. *Support Care Cancer*, 22, 2935–2940.

Saunders, D.P., Epstein, J.B., Elad, S., Allemanno, J., Bossi, P., van de Wetering, M.D, ... Lalla, R.V. (2013) Systematic review of antimicrobials, mucosal coating agents, anesthetics, and analgesics for the management of oral mucositis in cancer patients. *Support Care Cancer*, 21,3191–3207.

Scrimger, R. A., Seikaly, H., Vos, L. J., Harris, J., O'Connell, D., Ghosh, S., Debenham, B., & Jha, N. (2018). Combination of submandibular salivary gland transfer and intensity-modulated radiotherapy to reduce dryness of mouth (xerostomia) in patients with head and neck cancer. *Head & Neck*.

Soares, R. G., Farias, L. C., da Silva Menezes, A. S., de Oliveira e Silva, C. S., Tabosa, A. T. L., Chagas, P. V. F., Santiago, L., Santos, S.H.S., Paula, A.M.B., & Guimarães, A. L. S. (2018). Treatment of mucositis with combined 660- and 808-nm-wavelength low-level laser therapy reduced mucositis grade, pain, and use of analgesics: a parallel, single-blind, two-arm controlled study. *Lasers in Medical Science*, 33,1813-1819.

Soumya, E.A., Saad, I.K., Hassan, L., Ghizlane, Z., Hind, M & Adnane, R. (2011). Carvacrol and thymol components inhibiting *Pseudomonas aeruginosa* adherence and biofilm formation. *African Journal of Microbiology Research*, 5, 3229–3232.

Stokman, M. A., Spijkervet, F. K. L., Boezen, H. M., Schouten, J. P., Roodenburg, J. L. N., & de Vries, E. G. E. (2006). Preventive Intervention Possibilities in Radiotherapy- and Chemotherapy-induced Oral Mucositis: Results of Meta-analyses. *Journal of Dental Research*, 85, 690–700.

Tancharoen, S., Shakya, P., Narkpinit, S., Dararat, P., & Kikuchi, K. (2018). Anthocyanins Extracted from *Oryza sativa* L. Prevent Fluorouracil-Induced Nuclear Factor- κ B Activation in Oral Mucositis: In Vitro and In Vivo Studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 2981.

Trotti, A., Bellm, L. A., Epstein, J. B., Frame, D., Fuchs, H. J., Gwede, C. K., Komaroff, E., Nalysnyk, L., & Zilberberg, M. D. (2003). Mucositis incidence, severity and associated outcomes in patients with head and neck cancer receiving radiotherapy with or without chemotherapy: a systematic literature review. *Radiotherapy and Oncology*, 66, 253–262.

Van Leeuwen, M., Slot, D., & Van der Weijden, G. (2014). The effect of an essential-oils mouthrinse as compared to a vehicle solution on plaque and gingival inflammation: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Dental Hygiene*, 12, 160–167.

Vázquez-Sánchez, D., Galvão, J. A., Mazine, M. R., Gloria, E. M., & Oetterer, M. (2018). Control of *Staphylococcus aureus* biofilms by the application of single and combined treatments based in plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 286, 128–138.

Wang, X., Chen, X., Feng, X., Chang, F., Chen, M., Xia, Y., & Chen, L. (2015). Triclosan causes spontaneous abortion accompanied by decline of estrogen sulfotransferase activity in humans and mice. *Sci Rep*, 5, 1-11.

3. CAPÍTULO 2

O manuscrito a seguir intitulado **“Avaliação de segurança de espuma contendo óleos essenciais com potencial para prevenção e tratamento da mucosite oral – Estudo clínico de fase I”** será submetido para publicação no periódico “Archives of Oral Biology” Qualis A2, ISSN 0003-9969.

Avaliação de segurança de espuma contendo óleos essenciais com potencial para prevenção e tratamento da mucosite oral – Estudo clínico de fase I

Silveira KG¹; Dos Santos AE²; Costa-Neto H³; Sampaio FC⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária CEP: 58051-900, João Pessoa-Brasil.

² Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos,. Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária CEP: 58051-900, João Pessoa-Brasil.

³ Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Cidade Universitária CEP: 58051-900, João Pessoa-Brasil.

⁴Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária CEP: 58051-900, João Pessoa-Brasil. ³Departamento de Clínica e Odontologia Social. Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária CEP: 58051-900, João Pessoa-Brasil.

RESUMO:

Objetivo: Esse trabalho teve como objetivo realizar um estudo clínico de fase I, avaliando a citotoxicidade de uma espuma contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham., *Cymbopogon citratus* e *Citrus limon* e fortalecer a próxima etapa, um estudo de fase II utilizando a formulação para prevenção e tratamento em pacientes portadores de mucosite oral. **Materiais e métodos:** É um ensaio clínico, randomizado, intervencionista envolvendo 50 indivíduos saudáveis que foram submetidos à utilização do produto teste à base de *Lippia sidoides* Cham. nas concentrações de 0,5% (G1), 0,5% associado com OEs de *Cymbopogon citratus* 0,3% + *Citrus limon* 0,1% (G2), 0,25% associado com OEs de *Cymbopogon citratus* 0,2% + *Citrus limon* 0,2% (G3), placebo com excipientes sem óleos essenciais (G4) e placebo com excipientes + óleo essencial de *Cymbopogon citratus* + óleo essencial de *Citrus limon* (G5). Foi realizada citologia exfoliativa antes e depois do uso do produto, com coloração de Papanicolau e coloração ácido periódico-Schiff (PAS) para avaliação de alterações celulares. **Resultados:** Após o uso da espuma na concentração de 0,5%, os esfregaços avaliados apresentaram a alteração halo perinuclear estatisticamente significativa ($p < 0,05$). A concentração de 0,5% associado e 0,25% não apresentaram alterações celulares após o uso.

Conclusão: Esses resultados podem ter um impacto importante no desenvolvimento de terapêutica eficaz, segura e de baixo custo na saúde bucal em pacientes com mucosite.

Palavras-chave: Mucosite; Xerostomia; Lippia; Testes de Toxicidade

ABSTRACT

Objective: To conduct a phase I clinical study, evaluating the cytotoxicity of a foam containing essential oil of *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus* and *Citrus limon* and to strengthen the next step, a phase II study using the formulation for prevention and treatment in patients with oral mucositis. **Design:** It is a randomized, interventional, clinical trial involving 50 healthy individuals who underwent the use of the test product based on *Lippia sidoides* Cham. at 0.5% (G1), 0.5% associated with essential oil of *Cymbopogon citratus* 0.3% + *Citrus limon* 0.1% (G2), 0.25% associated with essential oils of *Cymbopogon citratus* 0.2% + *Citrus limon* 0.2% (G3), placebo with excipients without essential oils (G4) and placebo with excipients + essential oils of *Cymbopogon citratus* + *Citrus limon* (G5). Exfoliative cytology was performed before and after the use of the product, with Papanicolaou staining and periodic acid-Schiff staining (PAS) to evaluate cellular alterations. **Results:** After the use of the foam at 0.5% concentration, the smears evaluated presented to a statistically significant perinuclear halo change ($p < 0.05$). The concentration of 0.5% associated and 0.25% did not show cellular alterations after the use. **Conclusion:** These results may have a significant impact on the development of effective, safe and low cost oral health therapy in patients with mucositis.

Keywords: Mucositis; Xerostomia; Lippia; Toxicity Tests.

INTRODUÇÃO

Óleos essenciais (OEs) são misturas complexas de compostos voláteis, que podem ser isolados de partes anatômicas distintas das plantas aromáticas, que mostraram ter benefícios como atividade antibacteriana, anti-inflamatória, antiviral, anticarcinocinogenico e antioxidante (Bassolé & Juliani, 2012; Shaaban et al., 2012; Dima et al., 2015).

Entre eles temos *Cymbopogon citratus*, *Lippia sidoides* Cham. e *Citrus limon*. O *C. citratus*, também conhecido como Capim-limão, é uma das principais plantas medicinais e aromáticas cultivadas na Argélia (Boukhatem et al., 2014), que vem sendo utilizada no tratamento de diversas patologias devido a sua propriedade antibacteriana, antifúngica, analgésica, anti-séptica, antitussígena e anti-reumática. (Silva et al., 2008; Shah et al., 2011; Boukhatem et al., 2014)

Já a *Lippia sidoides* Cham., também conhecida como "Alecrim-pimenta", é uma planta nativa da região norte do estado de Minas Gerais e nordeste do Brasil. Estudos mostraram que esse OE possui ação anti-inflamatória, antioxidante, antifúngica e antibacteriana (Botelho et al., 2007; Fontenelle et al., 2007; Vázquez-Sánchez et al., 2018). Essa ação antimicrobiana acontece devido ao seu óleo essencial ser rico em carvacrol e timol, que têm uma potente atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias (Botelho et al., 2007).

O *Citrus limon* é uma planta do norte e nordeste brasileiro, mais conhecido como "Limoeiro", utilizado na medicina popular como hipolipemiantes, no tratamento de doenças cardiovasculares, doenças neurológicas, obesidade, diabetes e alguns tipos de câncer, além da sua ação antibacteriana. (Naim et al., 2012; Oboh et al., 2015; Avcioglu et al., 2016; Cirmi et al., 2017)

O efeito protetor de produtos naturais, como os OEs, contra o efeito citotóxico causado por radioterapia e quimioterapia é provavelmente uma das estratégias preventivas mais promissoras em pacientes durante a terapia (Aghamohamamdi et al., 2015). Mucosite oral (MO) é um efeito adverso citotóxico desse tratamento em pacientes com câncer, tendo como característica eritema, erosão e úlcera da mucosa oral (Al-Ansari et al., 2015; Prats et al., 2017). Essas ulcerações são dolorosas, consequentemente, prejudicam na nutrição devido a dificuldade de

deglutição e também na qualidade de vida, necessitando assim de terapias anti-inflamatórias e analgésicas (Cheng et al., 2010; Koizumi et al., 2017; Tancharoen et al., 2018). Ainda não existe um método definido para a prevenção e tratamento da MO (Stokman et al., 2006), sendo necessário estabelecer um protocolo deve utilizando novas terapias para melhorar a qualidade de vida desses pacientes.

A utilização de novos medicamentos deve ser avaliada e sua pesquisa deve seguir padrões para garantir a segurança aos usuários, seguindo algumas fases. O estudo clínico de fase I é realizado com 20 a 100 voluntários saudáveis e tem como objetivo identificar a curto prazo, qualquer sinal de alteração, fornecendo informações sobre segurança, tolerabilidade, farmacocinética e, por vezes, eficácia e propor esquemas posológicos a serem levado para a fase confirmatória (Fase III) (Decullier et al., 2009; Antman et al., 2012). Esse trabalho tem como objetivo realizar um estudo clínico de fase I, avaliando a citotoxicidade de uma espuma contendo óleo essencial de *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus* e *Citrus limon* e fortalecer a próxima etapa, um estudo de fase II utilizando a formulação para prevenção e tratamento em pacientes portadores de MO.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Considerações Éticas

O presente estudo foi submetido do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal da Paraíba e protocolo CAAE 83179618.8.0000.5188.

2. Descrição do estudo

Trata-se de um ensaio clínico, duplo-cego, randomizado, intervencionista, envolvendo indivíduos saudáveis. A população do estudo foi composta de 50 indivíduos divididos em 5 grupos, que foram submetidos à utilização do produto teste à base de *L. sidoides* Cham. nas concentrações de 0,5% (G1), 0,5% associado óleo essencial de *Cymbopogon citratus* 0,3% + óleo essencial de *Citrus limon* 0,1% (G2), 0,25% associado óleo essencial de *Cymbopogon citratus* 0,2% + Óleo essencial de *Citrus limon* 0,2% (G3), além do grupo onde os indivíduos

receberão o placebo excipientes sem óleos essenciais (G4) e placebo excipientes + óleo essencial de *Cymbopogon citratus* + óleo essencial de *Citrus limon* (G5).

3. Cálculo amostral

Cálculo amostral	
K	5
n por grupo	10
N geral	50
GLiberd SSB	4
GLiberd SSW	45
significância	0,05
ME f esperada	0,591607
F significancia	2,578739184
F sig probabilidade	0,05
lambda	17,49994212
V	45
Z poder	1,32987181
PODER probabilidade	0,908219745

Utilizando o teste ANOVA, onde k são os 5 grupos estudados (concentrações de 0,5%, 0,5% associado, 0,25% associado, além dos dois grupos placebos), utilizando 50 pacientes, com 10 voluntários em cada grupo, obtivemos o poder de 90%.

4. Critérios de inclusão

- a. Voluntários saudáveis;
- b. Voluntários maiores de 18 anos;
- c. Voluntários que desejavam participar do estudo.

5. Critérios de exclusão

- a. Voluntários com alterações sistêmicas;
- b. Voluntários com hipossalivação;
- c. Voluntários com alergia aos óleos essenciais *Lippia sidoides* Cham., *Cymbopogon citratus* e *Citrus limon*;
- d. Voluntárias grávidas ou lactantes;
- e. Voluntários fumantes;
- f. Voluntários apresentando lesões em cavidade oral;
- g. Voluntários que não desejavam participar do estudo.

6. Desenvolvimento da espuma

A metodologia de desenvolvimento da espuma seguirá a patente de processo de nº BR 10 2018 016386 8, datada de 22/07/2018

7. Citologia exfoliativa e coloração

Os participantes do estudo foram alocados nos grupos por sorteio, foi realizado a citologia exfoliativa antes e após 30 minutos da utilização dos produtos. A aplicação do produto e as coletas foram realizadas no Consultório Odontológico do Laboratório de Biologia bucal (LABIAL/UFPB). Foram aplicados a espuma em um recipiente de 10mL padronizado, em toda a mucosa jugal do paciente.

Para a análise citomorfológica, foi realizada a coleta do esfregaço da mucosa bucal, onde cada participante foi instruído a lavar a boca com água destilada e a mucosa bucal foi seca com gaze estéril para remover detritos superficiais e excesso de saliva. Os esfregaços foram obtidos da mucosa bucal clinicamente saudável dos voluntários, usando o método de esfoliação mecânica. Neste procedimento, uma espátula de madeira com ponta estendida e umedecida em água destilada foi introduzida na boca dos participantes sob visão direta e, em seguida, a espátula foi girada na superfície da área da mucosa bucal selecionada sob pressão por 2 a 3 vezes.

As raspagens obtidas foram transferidas para lâminas de vidro limpas e secas previamente rotuladas com o número de referência do participante e do grupo experimental. Cada raspagem foi colocada no meio da lâmina, espalhando por toda

a área, formando uma camada fina e uniforme para evitar aglomeração de células. As lâminas foram imediatamente fixadas usando álcool etílico 95%. Todos os esfregaços preparados foram corados com Papanicolaou e coloração de PAS usando os protocolos de rotina.

8. Procedimento de coloração de Papanicolaou

Esfregaços foram mergulhados em água destilada. Em seguida, colocados na solução de Hematoxilina e depois na água destilada durante 3 minutos cada. As lâminas foram lavadas em graus crescentes de álcool durante 2 minutos cada. Em seguida, a solução de Orange G foi aplicada por 3 minutos seguidos por álcool 95%. Após esses procedimentos, a solução de Eosina Azure foi aplicada por 3 minutos.

9. Procedimento de coloração de Ácido Periódico de Schiff (PAS)

Os esfregaços foram lavados em água destilada, tratados com solução de ácido Periódico (1g diluído em 100 mL de água destilada) durante 5 minutos em seguida mergulhados em água destilada. A seguir, os esfregaços foram cobertos com Reagente de Schiff (Fucsina básica: 1g dissolvido em 100 mL de água destilada e então aquecido a 50°C e depois filtrado, adicionado 2g de Metabissulfito de sódio + 2mL de HCl concentrado) e armazenados durante a noite em um ambiente escuro à temperatura ambiente. No outro dia, foi adicionado 0,3g de Carvão ativado, agitado por um minuto e filtrado por 15 minutos, lavados em água corrente por 5 a 10 minutos e em seguida, contra-corado com solução de Hematoxilina por aproximadamente 15 segundos. Todos os esfregaços preparados com PAS e Papanicolaou foram enxaguados em concentrações crescentes de álcool (70, 80, 95 e 100%).

10. Avaliação das lâminas

Para padronizar a avaliação citomorfológica, os esfregaços corados foram fotografados por uma câmera acoplada sob um microscópio de luz comum por um patologista. As lâminas foram examinadas microscopicamente de maneira escalonada. Foram realizadas 25 fotos de cada lâmina, totalizando 5000 fotos. Foram selecionadas 50 células desdobradas, de cada lâmina, definidas com

coloração adequada por amostragem sistemática, movendo o estágio do microscópio da esquerda para a direita seguido para baixo para evitar a repetição de células de diferentes campos em um aumento de 40x. Aglomerados celulares com detalhes indefinidos foram omitidos da contagem. Foram relatadas alterações nucleares como células discarióticas, aumento nuclear com ou sem hipercromasia, cromatina nuclear irregular, aumento da relação núcleo/citoplasma, binucleação ou multinucleação, fragmentação nuclear, micronúcleo e halo perinuclear e alterações nos citoplasmas como presença de glicogênio citoplasmático e vacuolização citoplasmática.

11. Análise estatística

As comparações entre as análises do esfregaço antes e depois do uso do produto foram feitas usando o teste Q de Cochran (dados dicotômicos). Em todos os casos, o nível de significância foi fixado em 0,05 (5%), sendo considerado estatisticamente significativo p menor que 0,05. Os dados foram analisados utilizando o software SPSS 22.

RESULTADOS

Após o uso da espuma na concentração de 0,5%, os esfregaços avaliados apresentaram aumento nuclear, aumento da relação núcleo/citoplasma, binucleação ou multinucleação, fragmentação nuclear, halo perinuclear, vacúolos citoplasmáticos e presença de glicogênio citoplasmático, porém não foram alterações estatisticamente significativas comparadas com antes do uso da espuma. Já a alteração núcleos picnóticos foi estatisticamente significante ($p < 0,05$). Não apresentou discariose e cromatina irregular (Tabela 07).

Tabela 07: Distribuição das alterações citomorfológicas entre antes e depois do uso da espuma na concentração de 0,5%.

Alterações celulares na concentração de 0,5%			
Alterações celulares	Antes*	Depois *	Sig
Discariose	0	0	
Aumento nuclear	1	1	1,000
Cromatina irregular	0	0	
Aumento da relação núcleo/citoplasma	2	4	0,157
Binucleação ou multinucleação	9	10	0,317
Fragmentação nuclear	1	3	0,157
Núcleos picnóticos	1	8	0,008**
Halo perinuclear	2	2	1,000
Vacúolos citoplasmáticos	6	4	0,157
Glicogênio citoplasmático	9	10	0,317

*Dados coletados a partir de 500 fotos por grupo (antes e depois) **Valores de $p < 0,05$ são considerados estatisticamente significativos

Após o uso da espuma com concentração de 0,5% associado, os esfregaços avaliados apresentaram cromatina irregular, aumento da relação núcleo/citoplasma, binucleação ou multinucleação, fragmentação nuclear, halo perinuclear, vacúolos citoplasmáticos e presença de glicogênio citoplasmático, porém não foram alterações estatisticamente significativas comparadas com antes do uso da espuma. Não apresentou discariose, aumento nuclear e núcleo picnótico (Tabela 08).

Tabela 08: Distribuição das alterações citomorfológicas entre antes e depois do uso da espuma na concentração de 0,5% associado.

Alterações celulares na concentração de 0,5% associado			
Alterações celulares	Antes*	Depois*	Sig
Discariose	0	0	-
Aumento nuclear	0	0	-
Cromatina irregular	1	2	0,564
Aumento da relação núcleo/citoplasma	1	2	0,564
Binucleação ou multinucleação	6	6	1,000
Fragmentação nuclear	1	1	1,000
Núcleos picnóticos	3	0	0,083
Halo perinuclear	1	1	1,000
Vacúolos citoplasmáticos	3	4	0,564
Glicogênio citoplasmático	10	10	1,000

*Dados coletados a partir de 500 fotos por grupo (antes e depois) **Valores de $p < 0,05$ são considerados estatisticamente significativos

Após o uso da espuma na concentração de 0,25% associado, os esfregaços apresentaram aumento nuclear, aumento da relação núcleo/citoplasma, binucleação ou multinucleação, fragmentação nuclear, núcleos picnóticos, vacúolos citoplasmáticos e presença de glicogênio citoplasmático, porém não foram alterações estatisticamente significativas comparadas com antes do uso da espuma. Já a alteração halo perinuclear foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$), porém essas alterações foram maiores antes do que após o uso. Não apresentou discariose e cromatina irregular (Tabela 09).

Tabela 09: Distribuição das alterações citomorfológicas entre antes e depois do uso da espuma na concentração de 0,25% associado.

Alterações celulares na concentração de 0,25% associado			
Alterações celulares	Antes*	Depois *	Sig
Discariose	0	0	-
Aumento nuclear	0	1	0,317
Cromatina irregular	0	0	-
Aumento da relação núcleo/citoplasma	4	4	1,000
Binucleação ou multinucleação	6	6	1,000
Fragmentação nuclear	2	1	0,157
Núcleos picnóticos	5	4	0,564
Halo perinuclear	6	2	0,046**
Vacúolos citoplasmáticos	4	4	1,000
Glicogênio citoplasmático	6	5	0,564

*Dados coletados a partir de 500 fotos por grupo (antes e depois) **Valores de $p < 0,05$ são considerados estatisticamente significativos

No placebo 01, os esfregaços avaliados apresentaram aumento da relação núcleo/citoplasma, binucleação ou multinucleação, fragmentação nuclear, halo perinuclear, vacúolos citoplasmáticos e presença de glicogênio citoplasmático, porém não foram alterações estatisticamente significativas comparadas com o antes do uso da espuma. Não apresentou discariose, aumento nuclear, cromatina irregular e núcleos picnóticos (Tabela 10).

Tabela 10: Distribuição das alterações citomorfológicas entre antes e depois do uso da espuma na concentração do placebo 01.

Alterações celulares na concentração de Placebo 01			
Alterações celulares	Antes *	Depois *	Sig
Discariose	0	0	-
Aumento nuclear	0	0	-
Cromatina irregular	0	0	-
Aumento da relação núcleo/citoplasma	1	2	0,317
Binucleação ou multinucleação	6	6	1,000
Fragmentação nuclear	2	2	1,000
Núcleos picnóticos	2	0	0,157
Halo perinuclear	0	1	0,317
Vacúolos citoplasmáticos	5	6	0,564
Glicogênio citoplasmático	10	10	1,000

*Dados coletados a partir de 500 fotos por grupo (antes e depois) **Valores de $p < 0,05$ são considerados estatisticamente significativos

No placebo 02, os esfregaços avaliados apresentaram fragmentação nuclear, vacúolos citoplasmáticos e presença de glicogênio citoplasmático, porém não foram alterações estatisticamente significativas comparadas com antes do uso da espuma. Já a alteração binucleação ou multinucleação e glicogênio citoplasmático foi estatisticamente significativa, porém as alterações foram mais presentes antes do uso da espuma. Não apresentou discariose, aumento nuclear, cromatina irregular e núcleos picnóticos (Tabela 11).

Tabela 11: Distribuição das alterações citomorfológicas entre antes e depois do uso da espuma na concentração do placebo 02.

Alterações celulares na concentração de Placebo 02			
Alterações celulares	Antes*	Depois*	Sig
Discariose	0	0	-
Aumento nuclear	0	0	-
Cromatina irregular	0	0	-
Aumento da relação núcleo/citoplasma	0	0	-
Binucleação ou multinucleação	6	2	0,046**
Fragmentação nuclear	1	2	0,317
Núcleos picnóticos	1	0	0,317
Halo perinuclear	0	0	
Vacúolos citoplasmáticos	2	2	1,000
Glicogênio citoplasmático	5	1	0,046**

*Dados coletados a partir de 500 fotos por grupo (antes e depois) **Valores de $p < 0,05$ são considerados estatisticamente significativos

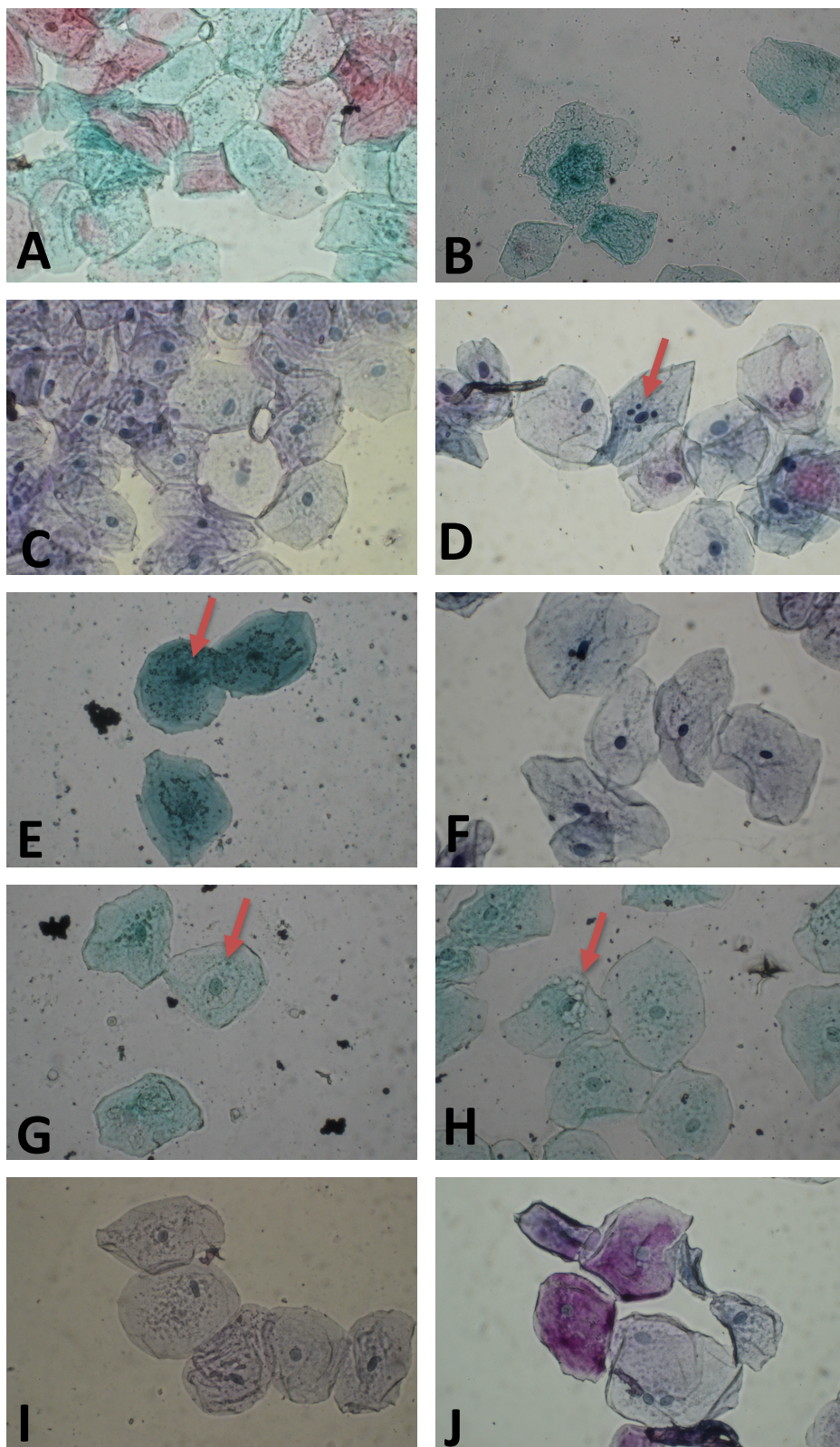


Fig.15: Alterações celulares avaliadas em aumento de 40x nas colorações Papanicolau e Ácido periódico-Schiff (PAS). A) Aumento nuclear; B) Cromatina irregular; C) Aumento da relação núcleo/citoplasma; D) Multinucleação; E) Fragmentação nuclear; F) Núcleos picnóticos; G) Halo perinuclear; H) Vacúolos citoplasmáticos; I) PAS negativo (Ausência de glicogênio citoplasmático); J) PAS positivo (Presença de glicogênio citoplasmático).

DISCUSSÃO

O presente estudo se caracteriza por ser um ensaio clínico de fase I, baseado no estudo de Salih et al., 2018 com modificações. As alterações no protocolo original foram incluídas em função da diferença de objetivos entre esses estudos. A principal alteração do protocolo original se refere ao fato de estarmos avaliando um produto, enquanto no protocolo anterior a investigação tinha como objeto de estudos alterações celulares em mucosa oral de pacientes portadores de diabetes. Diante do exposto, as observações de alterações celulares se mostraram mais desafiadoras, uma vez que as lâminas apresentavam na maioria das vezes com padrão de normalidade.

Em adição ao exposto, uma dificuldade na preparação do protocolo foi a ausência de protocolos similares e o desconhecimento do grupo de pesquisa quanto as possíveis alterações celulares advindas da exposição de mucosa oral aos óleos essenciais.

É conhecido que os óleos essenciais apresentam propriedades antifúngicas, antioxidantes, antibiofilme, mostraram baixa toxicidade para células humanas normais (Stringaro et al., 2018). Estudos sobre a citotoxicidade *in vivo* em produtos de prevenção e tratamento para mucosite e com óleo essencial de *Lippia sidoides* são raros na literatura.

Várias intervenções como anestésicos tópicos, antimicrobianos, analgésicos, laserterapia e principalmente medidas de higiene oral utilizando diversos colutórios são preconizados no tratamento da mucosite (Saunders et al., 2013; Saito et al., 2014; Soares et al., 2018).

Estudos relatam que o uso da clorexidina (CHX) em pacientes em tratamento quimioterápico não fornecem benefício clínico, podendo elevar o número de lesões de mucosite oral (Pitten et al., 2003). Outro estudo relata que a CHX é altamente citotóxica, causando morte celular pró-apoptótica e pró-necrótica, em diferentes tipos de células *in vitro*, sugerindo que a aplicação direta da CHX pode ter sérios efeitos tóxicos sobre os fibroblastos gengivais, células endoteliais e, especialmente, nos osteoblastos alveolares, interferindo negativamente na fase inicial de cicatrização de doenças bucais. (Giannelli et al., 2008)

Outras substâncias utilizadas como agente antimicrobiano em colutórios e cremes dentais são o Triclosan e o Lauril sulfato de sódio (Babich & Babich 1997), porém as preocupações quanto à segurança biológica do Triclosan, devido ao seu potencial de toxicidade e efeitos colaterais aumentaram. Alguns estudos indicam que essa substância é fisiologicamente prejudicial à saúde reprodutiva em humanos e animais (Wang et al., 2015; Han et al., 2016). Estudo realizado com camundongos, evidenciou que os animais expostos ao Triclosan aumentaram acentuadamente a sua susceptibilidade aos tumores hepáticos (Yueh et al., 2014).

Já a substância Lauril sulfato de sódio apresenta relatos associando seu uso à descamação da mucosa oral, leucoedema e reações no dorso da língua (Herlofson & Barkvoll, 1993; Macdonald, Tobin & Hurley, 2016; Brown, Smith & Glascoe, 2018). Assim é interessante a busca por uma nova substância que não seja citotóxica para utilização. Este artigo apresenta os dados de um estudo clínico em que um agente fitofarmacêutico em formulação de espuma foi desenvolvido para a prevenção e tratamento em pacientes com mucosite oral.

Foram utilizadas nesse estudo as colorações de Papanicolaou e coloração de PAS. O ácido periódico de Schiff é tipicamente usado em histoquímica e citoquímica para verificar a presença de glicogênio. O presente estudo mostrou que não há diferença estatisticamente significativa entre a presença de glicogênio antes e após o uso do produto, somente no grupo Placebo 02, porém essa alteração celular foi maior antes do uso da espuma.

O uso tópico da formulação em espuma contendo *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus* e *Citrus limon* em indivíduos saudáveis foi citológico e clinicamente seguro nas concentrações de 0,5% associado e 0,25% associado testadas. Somente a concentração de 0,5% apresentou alteração núcleo picnóticos estatisticamente significativa, que é indicativo de morte celular (efeito citotóxico) (Naderi & Pasha, 2017; Brina et al., 2018). As alterações celulares presentes podem ser interpretadas como irrelevantes devido a esse número em algumas concentrações serem superiores antes do uso do produto do que após.

O uso da formulação em espuma contendo *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus* e *Citrus limon* em indivíduos saudáveis foi citológico e clinicamente seguro nas concentrações de 0,5% associado e 0,25% associado testadas. Esses

resultados podem ter um impacto importante no desenvolvimento de terapêutica segura e economicamente viável na saúde oral em pacientes com mucosite.

Estudos de fase II e fase III devem ser realizados com finalidade de verificar a eficácia na prevenção e tratamento de mucosite oral, utilizando as concentrações de 0,5% associado e 0,25%, que se mostraram seguros, sem causar alterações celulares. Futuros estudos prospectivos de longo prazo com uma amostra maior e com um tempo de utilização maior estão sendo planejados para confirmar esses achados.

CONCLUSÃO

O uso tópico da formulação em espuma contendo *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus* e *Citrus limon* em indivíduos saudáveis foi citológico e clinicamente seguro nas concentrações de 0,5% associado e 0,25% associado testadas.

REFERÊNCIAS

Aghamohamamdi A, Hosseinimehr SJ. Natural Products for Management of Oral Mucositis Induced by Radiotherapy and Chemotherapy. Integr Cancer Ther. 2015;15(1):60-8.

Antman E, Weiss S, Loscalzo J. Systems pharmacology, pharmacogenetics, and clinical trial design in network medicine. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med. 2012;4(4):367-383.

Avcioglu NH, Sahal G, Bilkay IS. Antibiofilm effects of Citrus limonum and Zingiber officinale Oils on biofilm formation of Klebsiella ornithinolytica, Klebsiella oxytoca and Klebsiella terrigena species. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2016;13(6):61-67.

Boukhatem MN, Ferhat MA, Kameli A, Saidi F, Kebir HT. Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. *Libyan Journal of Medicine*. 2014;9(1): 25431.

Brina KR, Carvalho TS, Ardenghi PG, Basso da Silva, L. Micronuclei and other nuclear anomalies in exfoliated buccal cells of urban solid waste collectors and recyclers in southern Brazil. *Chemosphere*. 2018;193:1058–1062.

Cirmi S, Maugeri A, Ferlazzo N, et al. Anticancer Potential of Citrus Juices and Their Extracts: A Systematic Review of Both Preclinical and Clinical Studies. *Front Pharmacol*. 2017;8:420.

Decullier E, Chan AW, Chapuis F. Inadequate Dissemination of Phase I Trials: A Retrospective Cohort Study. *PLoS Medicine*. 2009;6(2): e1000034.

Dima C, Dima, S. Essential oils in foods: Extraction, stabilization, and toxicity. *Curr. Opin. Food Sci*. 2015;5:29–35.

Giannelli M, Chellini F, Margheri M, Tonelli P, Tani A. Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: A molecular and ultrastructural investigation. *Toxicology in Vitro*. 2008; 22(2); 308–317.

Naderi NJ, Pasha MP. Comparison of Cytotoxic Effect of Cigarette and Waterpipe Smoking on Human Buccal Mucosa. *Int J Prev Med*. 2017; 8: 98.

Naim M, Amjad FM, Sultana S, Islam SN, Hossain MA, Begum R, et al. Comparative study of antidiabetic activity of hexane-extract of lemon peel (*Limon citrus*) and glimepiride in alloxan-induced diabetic rats. *Bangladesh Pharmac J*. 2012;15:131–134.

Oboh G, Bello FO, Ademosun AO, Akinyemi AJ, Adewuni TM. Antioxidant, hypolipidemic, and anti-angiotensin-1-converting enzyme properties of lemon (*Citrus limon*) and lime (*Citrus aurantifolia*) juices. *Comparative Clinical Pathology*. 2015; 24(6): 1395–1406.

Reginald A, Sivapathasundharam B. Oral hairy leukoplakia: An exfoliative cytology study. *Contemp Clin Dent*. 2010;1(1):10-3.

Sahay K, Rehani S, Kardam P, Kumra M, Sharma R, Singh N. Cytomorphometric analysis and morphological assessment of oral exfoliated cells in type 2 diabetes mellitus and healthy individuals: A comparative study. *J Cytol*. 2017;34(1):27-33.

Salih MM, El-Esawy BH, Abd El hafez A, Abd El-Hafez A. Cytomorphologic patterns of Pap and PAS-stained oral exfoliative cytology smears in adult Saudi diabetic patients as compared to healthy controls. *Diagnostic Cytopathology*. 2018;46(6): 501–506.

Shah G, Shri R, Panchal V, Sharma N, Singh B, Mann AS. Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass). *J Adv Pharm Technol Res*. 2011;2(1):3-8.

Silva CDBD, Guterres SS, Weisheimer V, Schapoval EE. Antifungal activity of the Lemon grass oil and citral against *Candida* spp. *Braz J Infect Dis*. 2008; 12: 63.

Singh P, Sowmya SV, Rao RS, Augustine D, Haragannavar VC, Nambiar S. Koilocytes in Oral Pathologies. *World J Dent*. 2018;9(2):149-153.

Shaaban HAE, El-Ghorab AH, Shibamoto T. Bioactivity of essential oils and their volatile aroma componentes. Review. *J. Essent. Oil Res*. 2012; 24: 203-212.

Stringaro, A, Colone, M, Angiolella L. Antioxidant, Antifungal, Antibiofilm, and Cytotoxic Activities of *Mentha* spp. *Essential Oils. Medicines*. 2018; 5(4):112.

Yueh MF, Taniguchi K, Chen S, Evans RM, Hammock BD, Karin M, Tukey RH. The commonly used antimicrobial additive triclosan is a liver tumor promoter. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014;111(48): 17200–17205.

4. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Para o tratamento da mucosite, várias intervenções como anestésicos tópicos, antimicrobianos, analgésicos, laserterapia e principalmente medidas de higiene oral utilizando diversos colutórios são preconizados (Saunders et al., 2013; Saito et al., 2014; Soares et al., 2018). Colutórios como a clorexidina são utilizadas, porém estudos relatam que o uso dessa substância em pacientes em tratamento quimioterápico pode elevar o número de lesões de mucosite oral e também é citotóxica (Pitten et al., 2003; Giannelli et al., 2008).

A espuma contendo o óleo essencial de *Lippia sidoides* apresentou atividade antimicrobiana, tendo como melhor resultado a concentração de 0,5% associado aos outros óleos essenciais, podendo ser recomendada para pacientes com mucosite oral, já que esses apresentam maior risco a infecções sistêmicas, devido a serem pacientes imunocomprometidos e às ulcerações que causam ruptura da integridade da barreira epitelial (Al-Ansari et al., 2015).

O uso do óleo essencial de *Lippia sidoides* pode ser benéfico na prevenção e tratamento da mucosite oral, a espuma apresentou sabor e odor aceitáveis, é de fácil aplicação, não é invasivo, não apresenta efeitos adversos e é interessante devido ao seu baixo custo.

Pacientes submetidos à radioterapia apresentam xerostomia como efeito adverso. Estudos apontam que uma diminuição na taxa de fluxo salivar é um fator que aumenta o risco de mucosite oral (Eslami et al., 2016). A concentração de 0,5% apresentou melhor resultado de aumento de salivação durante e após o uso do produto. Dessa forma, um aumento de salivação nesses pacientes pode minimizar os danos causados pela mucosite oral, aliviar todas essas queixas e melhorar a qualidade de vida.

Esses resultados podem ter um impacto importante no desenvolvimento de terapêutica eficaz, segura e barata na saúde oral em pacientes com mucosite e xerostomia.

5.CONCLUSÃO

A formulação de espuma apresentou uma boa aceitação de aparência e consistência nos pacientes, sendo importante para os pacientes com mucosite.

A concentração de 0,5% associado apresentou redução de bactérias estatisticamente significativa após uma aplicação do produto por 01 minuto.

O uso da formulação em espuma contendo *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citratus* e *Citrus limon* em indivíduos saudáveis foi citológico e clinicamente seguro nas concentrações de 0,5% associado e 0,25% associado testadas.

6.REFERÊNCIAS

Al-Ansari S, Zecha JA, Barasch A, de Lange J, Rozema FR, Raber-Durlacher JE. Oral mucositis induced by anticancer therapies. Curr Oral Health Rep. 2015;2(4):202–11.

Bassolé IHN, Juliani HR. Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. Molecules. 2012;17(4): 3989–4006.

Chambers MS, Garden AS, Kies MS, Martin JW. Radiation-induced Xerostomia in patients with head and neck cancer: Pathogenesis, impact on quality of life, and management. Head & Neck. 2004;26(9):796–807.

Cheng KK, Leung SF, Liang RH, Tai JW, Yeung RM, Thompson DR. Severe oral mucositis associated with cancer therapy: impact on oral functional status and quality of life. Support Care Cancer. 2010;18(11):1477–85.

Elting LS, Cooksley C, Chambers M, Cantor SB, Manzullo E, Rubenstein EB. The burdens of cancer therapy. Clinical and economic outcomes of chemotherapy-induced mucositis. Cancer. 2003;98(7):1531–1539

Eslami H, Pouralibaba F, Falsafi P, Bohluli S, Najati B, Negahdari R, Ghanizadeh M. Efficacy of Hypozalix spray and propolis mouthwash for prevention of chemotherapy-induced oral mucositis in leukemic patients: A double-blind randomized clinical trial. Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects. 2016;10(4): 226–233.

Koizumi R, Azuma K, Izawa H, et al. Oral administration of surface-deacetylated chitin nanofibers and chitosan inhibit 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. *Int J Mol Sci.* 2017;18:E279.

Krenger W, Ferrara JL. Graft-vs-host disease and the Th1/Th2 paradigm. *Immunologic Research* 1996;15:50-73.

Nagi R, Patil DJ, Rakesh N, Jain S, Sahu S. Natural agents in the management of oral mucositis in cancer patients-systematic review. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research.* 2018;8(3):245-254.

Prats PM, Garcia FG, Diaz FM, Mendes RA, Lopez-Jornet P. The therapeutic effects of apigenin and dexamethasone on 5-fluorouracil-induced oral mucositis—a pilot study using a Syrian hamster model. *J Oral Pathol Med.* 2017;46:142-147.

Scrimger RA, Seikaly H, Vos LJ, Harris J, O'Connell D, Ghosh S, Debenham B, Jha N. Combination of submandibular salivary gland transfer and intensity-modulated radiotherapy to reduce dryness of mouth (xerostomia) in patients with head and neck cancer.. *Head & Neck.* 2018

Sonis S. Mucositis as a biological process: a new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. *Oral Oncology.*1998;34(1):39–43.

Tancharoen S, Shakya P, Narkpinit S, Dararat P, Kikuchi K. Anthocyanins Extracted from *Oryza sativa* L. Prevent Fluorouracil-Induced Nuclear Factor- κ B Activation in Oral Mucositis: In Vitro and In Vivo Studies. *International Journal of Molecular Sciences.* 2018;19(10): 2981.

Trotti A, Bellm LA, Epstein JB, Frame D, Fuchs HJ, Gwede CK, Komaroff E, Nalysnyk L, Zilberberg MD. Mucositis incidence, severity and associated outcomes in patients with head and neck cancer receiving radiotherapy with or without chemotherapy: a systematic literature review. *Radiotherapy and Oncology.* 2003;66(3), 253–262.

7.ANEXO A

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE MICROENCAPSULADO CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE L. SIDOIDES CHAM. PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DE MUCOSITE ORAL.

Pesquisador: ALESSANDRA ESTEVAM DOS SANTOS

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 83179618.8.0000.5188

Instituição Proponente: Centro De Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.839.183

Apresentação do Projeto:

Projeto de doutorado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos. Área de concentração: Desenvolvimento de produtos e processos da aluna ALESSANDRA ESTEVAM DOS SANTOS com a orientação do Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral: Desenvolver e avaliar in vitro e in vivo a eficácia das microcápsulas, contendo óleo essencial de Lippia sidoides Cham. no manejo terapêutico da mucosite oral radioinduzida em graus 2 e 3 (OMS).

Objetivos Específicos:

Extrair o óleo essencial de L. sidoides Cham. Avaliar a relação concentração de timol X período de coleta, através de um estudo de sazonalidade.

Microencapsular o OELs e incorporar em uma forma farmacêutica para manejo terapêutico da mucosite oral radioinduzida.

Realizar testes pré-clínicos e verificar a estabilidade do óleo essencial de L. sidoides Cham., do produto intermediário microencapsulado e do produto final.

Verificar atividade antifúngica e antimicrobiana do óleo essencial de L. sidoides Cham., do produto intermediário microencapsulado e do produto final.

Realizar ensaio clínico randomizado para avaliação da eficácia terapêutica em pacientes portadores

Endereço: UNIVERSITÁRIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900
UF: PB Município: JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedetica@ccs.ufpb.br

Continuação do Formulário 2.826.183

de mucosite oral grau 2 e 3 (OMS) radioinduzidas.

Avaliar comparativamente o uso de lasers de baixa potência com o produto obtido no manejo da mucosite oral radioinduzida.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Espera-se que os riscos sejam mínimos, uma vez que os testes de toxicidade estão de acordo com o recomendado para segurança do paciente. Para coleta da saliva, o voluntário pode se sentir constrangido em cuspir diante do pesquisador. Quanto à utilização do produto, pode ocorrer em alguns casos, ardência e/ou aumento da salivação.

Benefícios: Melhora significativa do quadro clínico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo descritivo clínico, randomizado intervencionista, longitudinal e microscópico envolvendo indivíduos submetidos a tratamento radioterápico oró-facial exclusivo no Hospital Napoleão Laureano, em João Pessoa - PB. A população do estudo será composta de 60 indivíduos divididos em 3 grupos sendo: A- 20 indivíduos com mucosite oral grau 2 e 3 (OMS) que serão submetidos à laserterapia de baixa potência (aplicações por ponto por 3 dias), as aplicações serão realizadas com um aparelho de laser TWIN LASER – Reg. ANVISA/MS nº80051420007 – MM OPTICS LTDA; B - 20 indivíduos com mucosite oral grau 2 e 3 (OMS) que serão submetidos a utilização do produto à base de L. sidoides Cham. e C- 20 indivíduos com mucosite oral grau 2 e 3 (OMS) que serão submetidos ao protocolo clínico-farmacológico empregado pelo Hospital Napoleão Laureano.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Anexados.

Recomendações:

Todos os resultados de uma pesquisa deverão ser divulgados junto aos participantes da mesma, assim como na(s) instituição(ões) onde os dados foram obtidos. ACONSELHAMOS A TODOS OS PESQUISADORES (RESPONSÁVEL/ASSOCIADO/ASSISTENTE) QUE ANTES DO ENVIO DE QUALQUER PROTOCOLO DE PESQUISA, VIA PLATAFORMA BRASIL, SEJA FEITA UMA LEITURA DA 466/12, ASSIM COMO DA NORMA OPERACIONAL N. 001/13, AMBAS DO CONSELHO NACIONAL DE Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisadora apresenta uma emenda que inclui do teste de hemólise, o qual utiliza hemácias humanas para sua realização. Anexa Autorização Institucional do laboratório de análises clínicas

Endereço: UNIVERSITÁRIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900
UF: PB Município: JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



Continuação do Parecer: 3.839.183

que fornecerá tal material. Além disso, será realizado o Estudo Clínico Fase I, com voluntários saudáveis, estando anexado o TCLE e o questionário referente a esta etapa.

Portanto considero esta emenda aprovada.

Este é meu parecer, salvo melhor juízo.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1183815_E1.pdf	23/07/2018 23:00:30		Aceito
Outros	EmendaFaseI.pdf	23/07/2018 22:57:52	ALESSANDRA ESTEVAM DOS SANTOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDITMComiteeEticaComEmenda.pdf	23/07/2018 22:56:57	ALESSANDRA ESTEVAM DOS SANTOS	Aceito
Outros	QuestionarioCaracteristicasOrganolepticas.pdf	20/07/2018 23:01:20	ALESSANDRA ESTEVAM DOS SANTOS	Aceito
Outros	AUTORIZACAONINSTITUCIONALHEMOCLIN.pdf	20/07/2018 23:00:21	ALESSANDRA ESTEVAM DOS SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEFaseI.pdf	20/07/2018 22:57:05	ALESSANDRA ESTEVAM DOS SANTOS	Aceito
Outros	CartadeAruenciaLaureano.pdf	03/06/2018 21:51:10	ALESSANDRA ESTEVAM DOS SANTOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDITMComiteeEticaCorrigido.pdf	24/04/2018 22:50:23	ALESSANDRA ESTEVAM DOS SANTOS	Aceito
Folha de Rosto	FolhadierostoAlessandraEstevam.pdf	24/04/2018 22:45:29	ALESSANDRA ESTEVAM DOS SANTOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEFaseClinicallCorrigido.pdf	24/04/2018 22:44:40	ALESSANDRA ESTEVAM DOS SANTOS	Aceito

Situação do Parecer:

Endereço: UNIVERSITÁRIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900
UF: PB Município: JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



Continuação do Parecer: 2.839.183

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JOAO PESSOA, 23 de Agosto de 2018

Assinado por:

Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador)

Endereço: UNIVERSITARIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

Página 01 de 01

8. APENDICE A

Questionário – Características Organolépticas

AVALIAÇÃO DE ESPUMA CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE *LIPPIA SIDOIDES* CHAM. PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DE MUCOSITE ORAL EM PACIENTES IRRADIADOS – ESTUDO CLÍNICO DE FASE I.

1. Identificação

1.1. Data: ____/____/____ Nº de registro: _____ Telefone: _____

1.2. Nome: _____

1.3. Data de nascimento: ____/____/____ Idade: _____

1.4. Sexo: () Feminino () Masculino

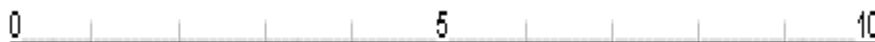
1.5. Código do produto: _____

Assinatura do participante da pesquisa

2. Questionário - Uso da Visual Analogue Scale (VAS)

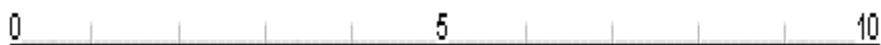
2.1 O produto apresenta boa aparência?

() Sim () Não



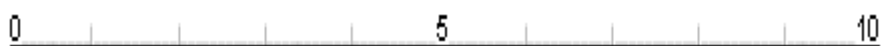
2.2 O produto apresenta boa consistência?

() Sim () Não



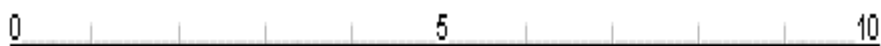
2.3 O produto é de fácil aplicação?

() Sim () Não



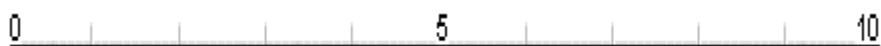
2.4 O produto apresenta odor agradável?

() Sim () Não



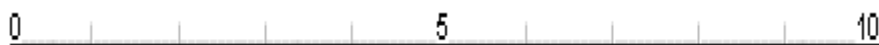
2.5 O produto apresenta sabor agradável?

() Sim () Não



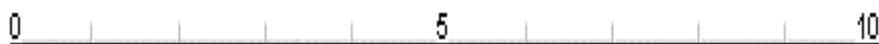
2.6 Durante o uso do produto houve aumento da salivação?

() Sim () Não



2.7 Após o uso do produto houve aumento da salivação?

() Sim () Não



2.8 Foi verificado algum efeito durante o uso do produto?

() Ardência

() Dor

() Dormência

() Refrescância

() Náusea

() Outros _____

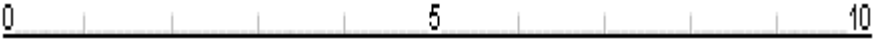
2.9 Foi verificado algum efeito após o uso do produto?

() Ardência

() Dor

() Dormência

() Refrescância

() Náusea 

() Outros _____