

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

**Desenvolvimento e avaliação antimicrobiana
de géis *in situ* carregados com óleo essencial de
Lippia sidoides Cham.**

MARIA VITORIA OLIVEIRA DANTAS

SAPIENTIA AEDIFICAT

JOÃO PESSOA-PB

2023

MARIA VITORIA OLIVEIRA DANTAS

**Desenvolvimento e avaliação antimicrobiana de géis *in situ*
carreados com óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham.**

**Development and antimicrobial evaluation of *in situ* gels loaded
with essential oil of *Lippia sidoides* Cham.**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Odontologia, da
Universidade Federal da Paraíba, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Odontologia – Área
de Concentração Ciências
Odontológicas.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio
Coorientador: Prof. Dr. Paulo Rogério Ferreti Bonan

João Pessoa

2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

D192d Dantas, Maria Vitoria Oliveira.

Desenvolvimento e avaliação antimicrobiana de géis
in situ carregados com óleo essencial de *Lippia sidoides*
Cham. / Maria Vitoria Oliveira Dantas. - João Pessoa,
2023.

83 f. : il.

Orientação: Fábio Correia Sampaio.

Coorientação: Paulo Rogério Ferreti Bonan.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Ferida Cirúrgica - Infecção. 2. Óleo essencial -
Atividade antimicrobiana. 3. Poloxâmero. 4. Quitosana.
5. Testes de Sensibilidade Microbiana. I. Sampaio,
Fábio Correia. II. Bonan, Paulo Rogério Ferreti. III.
Título.

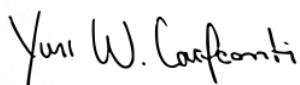
UFPB/BC

CDU 616-001.4(043)

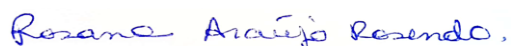
MARIA VITORIA OLIVEIRA DANTAS

**Desenvolvimento e avaliação antimicrobiana de géis *in situ*
carreados com óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham.**

A comissão examinadora abaixo relacionada julgou a Defesa de Dissertação apresentada em sessão pública no dia 23 de janeiro de 2023 e atribuiu o conceito aprovado.



Prof. Dr. Yuri Wanderley Cavalcanti
Presidente - UFPB



Profa. Dra. Rosana Araújo Rosendo
Examinador - UFCG



Profa. Dra. Caroline Uchôa Souza Carvalho
Examinador – UFPB

*Dedico aos meus pais e irmãos, pelo incentivo,
apoio e por perseverarem até aqui.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, que em toda a sua infinita bondade e amor não me desamparou por um minuto sequer, sempre me dando saúde e renovando minhas forças, me ensinando a ser perseverante diante das dificuldades, me fazendo compreender que todas as coisas acontecem mediante a Sua boa, perfeita e agradável vontade. Foi o meu consolo nos momentos de saudade e o meu socorro bem presente. Dispensou sobre mim incontáveis bençãos imerecidas, e a essa jornada, permitiu que pessoas especiais permanecessem comigo para tornar tudo mais leve. Que toda honra e toda glória, seja dada a Ti, ó Deus da minha Salvação.

Agradeço aos meus pais, Damião Ricardo Dantas de Almeida e Josicleide Oliveira da Silva, por acreditarem em mim, pela educação que me deram e a referência de família que são para mim, que certamente foi indispensável para que eu pudesse trilhar essa caminhada com integridade e humildade, por me lembrarem da fé em Cristo Jesus e me ensinarem a sempre descansar em Deus. Por confiarem inteiramente em mim e compreenderem a minha ausência, pelo apoio, pelos conselhos e pela presença constante, apesar da distância. De forma alguma conseguiria retribuir o esforço do trabalho árduo e humilde, assim como as renúncias que não foram poucas para que eu pudesse ter conforto e para a concretização desse sonho que é nosso!

Sou grata aos meus bisavós maternos (*in memorian*) vovó Josefa e vovô Tomás, aos meus avós maternos, vovó Francisca e vovô Dão, e aos avós paternos, vovó Maria e vovô Manoel (*in memorian*), pela linda família que construíram, pelas orações, apoio incondicional e por todo carinho e cuidado.

Aos meus irmãos, David, Helena e Eduardo, sou grata pelo nosso amor incondicional, que supera a distância e a rotina, por me lembrarem que tenho um lar amoroso e seguro. Por compreenderem a minha ausência e por serem a motivação na qual encontro força para ser uma pessoa melhor a cada dia e um exemplo de irmã.

Agradeço a minha família de coração, que me adotaram e verdadeiramente me amaram, em especial a Mãe Delça, Zé Nilzon, Francisco (*in memorian*),

Paulinha e Vinícius, Michelli e Gil, Toca e Juninho, Mikelli e Zé Iran e Reginha e Rafael, por sonharem comigo e não medirem esforços para transformar esse sonho em realidade, bem como por se fazerem presente e se alegrarem com cada etapa vencida.

A José Gabriel, Benjamin, João Victor (*in memorian*), Cecília, Mércia, Lorena, Jhoanny, Maria Júlia, Lorenzo, João Miguel, Sara, Juciel Junior, Rafael, Luiz Filipe, Ravel, Isaque, Lohan, Gabriel, Alice, Heitor, Nicolás, Nicole, Humberto, Ane Vitória, Valentina, Thaleson, Paulo Ricardo, Maria Heolá, Theo, Laís e Levi, sou grata por sempre me trazerem a memória a simplicidade de uma vida repleta e feliz.

Sou grata também a toda a minha família e aos amigos, por sempre se fazerem presentes na torcida pela realização desse sonho, nos dando todo o apoio, e contribuindo de forma singular para essa conquista.

Aos meus amigos, Paula Nogueira e Quemuel Pereira, que viveram comigo essa incrível jornada, agradeço por tornarem tudo tão leve, por estarem comigo quando mais precisei da companhia de um ombro amigo, vocês me fizeram mais forte, amadureci e me tornei uma pessoa melhor a cada dia compartilhado. Os dias de estresse e os momentos tristes foram superados, os dias de felicidade foram vividos intensamente. A amizade construída na graduação, permaneceu no mestrado e permanecerá para a vida inteira.

Aos meus amigos, Amanda Araújo, Tays Santana, Thallita Alves e Filipe Lima que mesmo distante participaram dessa conquista. Pelos raros, mas revigorantes encontros, pelas mensagens aleatórias de saudade, desabafos ou felicitações e pelas orações. Poder compartilhar dessa amizade madura que persiste aos desdobramentos da vida é algo maravilhoso.

Agradeço de uma forma especial a família de Paula Nogueira: Enir Nogueira, Erivone Lima, Paloma Nogueira e Paulo Ricardo, a família de Amanda Araújo: Armando Araújo, Francisca Inês, Adalmando Araújo, e a família de Quemuel Pereira: Adoman José, Deusiene Pereira, Damilly Duane, George Borges, ao pequeno Josué, Hilquias Pereira, Jaqueline Leão, Dilene Pereira, Vó Carminha e Carmem Daniela, pelo imenso carinho, por serem para mim um ponto de apoio, sou

grata por acreditarem em mim, por cada palavra de incentivo e pelas orações. Hoje também estou aqui por vocês.

A pessoas incríveis como Danielle Nóbrega (e sua linda família), Amanda Oliveira, Amanda Carneiro, Ana Moura, Maria Andrêzza, Ana Karoline, Panmella, Helder, Alexandre, Caroline Uchôa, Paty e Rebeca, sou grata a cada um por cada conselho, cada conhecimento compartilhado e por cada ajuda que contribuiu para que eu chegasse até aqui.

Agradeço a Igreja Presbiteriana do Brasil de João Pessoa – PB, Igreja Presbiteriana do Brasil de Limoeiro do Norte – CE e a Igreja Presbiteriana do Brasil de Iguatu – CE, por me acolherem, pelo carinho e pelas orações durante esses anos.

Ao meu grupo de pesquisa do Laboratório de Bioensaios da UFCG - LBio, que me proporcionou um aprendizado inestimável, acompanhado de sonhos realizados, desafios e superações, companheirismo e que gerou em mim o amor e o respeito pela pesquisa.

A minha querida Universidade Federal de Campina Grande – UFCG e a todo o corpo docente do curso de Odontologia CSTR-Patos PB, por todo o apoio e incentivo que me permitiu almejar a docência e a pesquisa.

Ao PPGO-UFPB e à Universidade Federal da Paraíba, instituição ao qual tenho grande orgulho de fazer parte, que me ofereceu o suporte e foi o cenário responsável por importantes aprendizados e o lugar onde conheci e criei vínculos com pessoas maravilhosas. Meu reconhecimento aos funcionários que integram a instituição. Assim como à CAPES, pelo apoio financeiro recebido.

Ao meu orientador Fábio Correia Sampaio, por acreditar em mim e pela confiança a mim creditada durante todo o mestrado. Gratidão por todo o apoio, compreensão e pela orientação ao decorrer das pesquisas. Apesar do momento de distanciamento social, me senti acolhida pelo senhor e pelo grupo de Pesquisa LABIAL. É uma honra tê-lo como orientador.

Ao meu coorientador Paulo Rogério Ferreti Bonan, que de forma tão gentil me ouviu e me incentivou em cada ideia compartilhada. Me instruiu e me permitiu

vivenciar e confirmar o meu apreço pela Estomatologia. Sua maestria e ética profissional me inspirou durante todo o percurso.

Ao professor Ricardo Dias de Castro, que de forma singular me instruiu ao caminho de uma pesquisa descomplicada, seus conselhos me acalmaram por inúmeras vezes. Agradeço também por me acolher e por todo o aprendizado que obtive no Laboratório De Farmacologia Experimental e Cultivo Celular – LAFECC.

A professora Rosana Araújo Rosendo, que após toda orientação durante minha trajetória na graduação, continuou a me apoiar e a me conduzir na pós-graduação. Sempre levarei comigo seus ensinamentos e sua humildade em compartilhar conhecimentos.

A todos os professores da UFPB que tive a oportunidade de conhecer, a minha eterna gratidão pelos conhecimentos e valores transmitidos, em especial aos professores, Lino Costa, André Ulisses, Bianca Santiago, Edson Hilan, Eduardo Dias, Felipe Queiroga, Franklin Forte, Frederico Sousa, Laise Lima, Leopoldina Almeida, Marcelo Sales, Sabrina Aquino, Simone Sousa, Sônia Raso, Plínio Rocha, Yuri Cavalcanti.

Ao Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste – CERTBIO, especialmente ao Professor Marcus Vinícius, Professora Suédina Maria, Filipe Rodrigues e João Victor por terem me acolhido tão bem, pelo esforço, paciência e atenção que tiveram, cuja participação foi fundamental para o resultado desse estudo.

Ao Hospital Universitário Lauro Wanderley, que me proporcionou um aprendizado inestimável. Sou eternamente grata as vidas que estiveram sobre meus cuidados, aos pacientes atendidos por mim, por confiarem e me permitirem aprender e aplicar os meus conhecimentos.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

*“Bem sei que tudo podes, e
nenhum dos teus planos pode ser
frustrado.”*

Jó 42:2

RESUMO

INTRODUÇÃO: As Infecções do Sítio Cirúrgico são consideradas um problema recorrente nas intervenções cirúrgicas. Géis *in situ* com liberação de antimicrobianos podem contribuir para minimizar o problema. **OBJETIVO:** Desenvolver, realizar caracterizações morfológicas e físico-químicas e avaliar a atividade antimicrobiana de géis *in situ* de Poloxamer (P407) e Quitosana (Q) carregados com óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (OELS). **METODOLOGIA:** O OELS foi submetido a cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massa (CG-EM). A concentração inibitória mínima (CIM) do OELS frente as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 15656), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Candida albicans* (ATCC 76485) foi determinada. Foram confeccionados géis *in situ* carregados com OELS nas concentrações de 1%, 0,5% e 0,25% com e sem a adição da Q. Géis formulados sem OELS e Solução salina 0,9% foram controles negativos. Clorexidina 0,12% e nistatina foram controles positivos. Os géis foram submetidos à espectroscopia no infravermelho por transformada de fourier (FTIR), análise do tamanho, índice de polidispersão (PDI), potencial zeta (PZ), avaliação das propriedades de transição Sol-Gel (Tsol-gel), análises reológicas, estudo de estabilidade por 30 dias e atividade antimicrobiana. **RESULTADOS:** O timol (57,85%) foi o componente majoritário encontrado no OELS. O OELS apresentou CIM de 256, 128 e 128 µg/mL contra as cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans* respectivamente. O FTIR comprovou a incorporação do OELS aos géis. O tamanho médio das partículas e os valores de PDI aumentaram na presença da Q. Apenas as formulações com Q apresentaram valores de PZ positivos. Os géis apresentaram as temperaturas (Tsol-gel) entre 20 ± 1 °C a 28 ± 1 °C, com tempos (Tsol-gel) a 37 °C variando entre 18.76 ± 1.24 s a 46.46 ± 8.89 s. De acordo com as análises reológicas, os géis *in situ* possuem comportamento pseudoplástico, mostraram-se estáveis termicamente na faixa de temperatura analisada (25-40 °C). Os géis apresentaram-se estáveis no período de 30 dias. O gel contendo o OELS apresentou CIM de 5 µg/mL frente as cepas testadas. **CONCLUSÃO:** Os géis *in situ* de P407+Q carregados com OELS apresentaram características estáveis, com ação antimicrobiana promissora para aplicação em mucosa bucal.

Palavras chaves: Infecção da Ferida Cirúrgica; Óleo Essencial; Poloxâmero; Quitosana; Testes de Sensibilidade Microbiana.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Surgical Site Infections are considered a recurrent problem in surgical interventions. *In situ* gels with antimicrobial release can contribute to minimize the problem. **OBJECTIVE:** To develop, carry out morphological and physicochemical characterizations and evaluate the antimicrobial activity of *in situ* gels of Poloxamer (P407) and Chitosan (Q) loaded with essential oil of *Lippia sidoides* Cham. (OELS). **METHODOLOGY:** The OELS was characterized by gas chromatography coupled to mass spectroscopy (GC-MS). The minimum inhibitory concentration (MIC) of OELS against *Staphylococcus aureus* (ATCC 15656), *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Candida albicans* (ATCC 76485) strains was determined. *In situ* gels loaded with OELS at concentrations of 1%, 0.5% and 0.25% were made with and without the addition of Q. Gels formulated without OELS and saline solution 0.9% were negative controls. Chlorhexidine 0.12% and Nystatin were positive controls. The gels were characterized by fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), size analysis, polydispersion index (PDI), zeta potential (PZ), evaluation of Sol-Gel transition properties (Tsol-gel), rheological analysis, stability study for 30 days and antimicrobial activity. **RESULTS:** Thymol (57.85%) was the major component found in OELS. The OELS showed MIC of 256, 128 and 128 µg/mL against strains of *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans*, respectively. FTIR confirmed the incorporation of OELS to the gels. Mean particle size and PDI values increased in the presence of Q. Only formulations with Q showed positive PZ values. The gels showed temperatures (Tsol-gel) between 20 ± 1 °C to 28 ± 1 °C, with times (Tsol-gel) at 37 °C ranging from 18.76 ± 1.24 s to 46.46 ± 8.89 s. According to the rheological analyses, the *in situ* gels present a pseudoplastic behavior, they are thermally stable in the residual temperature range (25-40 °C). The gels were stable within 30 days. The gel containing the OELS showed a MIC of 5 µg/mL against the symptom strains. **CONCLUSION:** The P407+Q *in situ* gels loaded with OELS showed stable characteristics, with promising antimicrobial action for application in the oral mucosa.

Keywords: Surgical Wound Infection; Óleo Volátil; Poloxamer; Chitosan; Microbial Sensitivity Tests.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC- American Type Culture Collection
ATR- Reflectância Total Atenuada
CDC- Center for Disease Control and Prevention
CG-EM- Cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massa
CIM (MIC)- Concentração Inibitória Mínima (Minimum Inhibitory Concentration)
CLSI- Clinical and Laboratory Standards Institute
CSD- Caldo Sabouraud Dextrose
DLS- Dispersão de luz dinâmica
DP- Desvio padrão
EPS- Exopolissacarídeos
EUA- Estados Unidos da América
FDA- Food and Drug Administration
FTIR- Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
ISCs- Infecções do Sítio Cirúrgico
NPs- Produtos naturais
OELS- Óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham.
OEs- Óleos essenciais
OMS- Organização Mundial da Saúde
P407- Poloxamer
PDI- Índice de polidispersão
PZ- Potencial zeta
Q- Quitosana
RENISUS- Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
T.A- Temperatura ambiente
TPP- Tripolifosfato de Sódio
Tsol-gel- Transição sol-gel
ZnSe- Zinco Selênio

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aspecto inicial dos géis <i>in situ</i>	44
Figura 2. (A) Espectros de infravermelho do gel de poloxamer puro e carregado com diferentes concentrações do OELS. (B) Recorte do espectro de infravermelho dos géis no intervalo de 850–500 cm ⁻¹	45
Figura 3. (A) Espectros de infravermelho do gel de poloxamer/quitosana puro e carregado com diferentes concentrações do OELS. (B) Recorte do espectro de infravermelho dos géis no intervalo de 850–500 cm ⁻¹	46
Figura 4. (A) Gel <i>in situ</i> em fase de solução. (B) Gel <i>in situ</i> após gelificação.	49
Figura 5. Viscosidade aparente em função da frequência oscilatória dos géis formados por Poloxamer, Quitosana e OELS em diferentes proporções.	50
Figura 6. Tangente de perda (tanδ) em função da temperatura.	51
Figura 7. Valores de pH das formulações armazenadas em temperatura ambiente (T.A) durante 30 dias.....	53
Figura 8. Valores de pH das formulações armazenadas em geladeira durante 30 dias.....	53
Figura 9. Valores de pH das formulações armazenadas em estufa durante 30 dias.	53
Figura 10. (A) Aspecto inicial dos géis <i>in situ</i> . (B) Aspecto dos géis <i>in situ</i> após 30 dias de armazenamento em estufa.	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudos que desenvolveram formulações orais contendo óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham.	25
Tabela 2. Grupos de géis <i>in situ</i> e as concentrações finais.	38
Tabela 3. Composição química do óleo essencial de <i>L. sidoides</i> Cham. Componentes listados em ordem de eluição.....	42
Tabela 4. Resultado de análise no DLS dos grupos testados em relação ao D, PDI e PZ.....	47
Tabela 5. Resultado da avaliação da Temperatura (Tsol-gel) e do Tempo (Tsol-gel) a 37 °C.	48
Tabela 6. Avaliação do pH inicial e após 30 dias de armazenamento em temperatura ambiente (T.A), geladeira e estufa.	54

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Infecção do Sítio Cirúrgico.....	18
2.2 Óleos essenciais.....	21
2.3 Óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham. como antimicrobiano bucal	23
2.4 Gel <i>in situ</i> de Poloxamer 407 e Quitosana	27
3. OBJETIVOS.....	31
3.1 Objetivo Geral.....	31
3.2 Objetivos Específicos	31
4. ARTIGO	32
5. CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS.....	70

1. INTRODUÇÃO

As Infecções do Sítio Cirúrgico (ISCs) consistem em complicações pós-operatórias e estão entre as mais comuns infecções associadas aos cuidados de saúde, podendo corresponder entre 160.000 a 300.000 casos a cada ano. As intervenções cirúrgicas em mucosa bucal são ainda mais vulneráveis a infecções, ocorrendo em 2 a 12% das cirurgias (BARLEAN *et al.*, 2019; COSTA *et al.*, 2019; SAHTOE *et al.*, 2021).

O diagnóstico é realizado pela presença dos sinais de inflamação e de secreção purulenta nas áreas da incisão cirúrgica ou próximas a elas dentro de 30 dias após a intervenção (CHUA *et al.*, 2022). A resistência microbiana e as comorbidades dos pacientes tornam o tratamento desse processo infeccioso um desafio (SYUKRI *et al.*, 2020).

Os microrganismos mais comumente isolados de ISCs são *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Staphylococcus coagulase negativa*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp., *Enterococcus* spp., *Citrobacter* spp., *Acinetobacter* spp. e *Staphylococcus epidermidis* e *Candida albicans* (OWENS; STOESSEL, 2008; SENGUPTA *et al.*, 2014; COSTA *et al.*, 2019).

O acúmulo de biofilme microbiano está entre as principais causas das ISCs em intervenções cirúrgicas bucomaxilofaciais (AMORA-SILVA *et al.*, 2019). Fluidos ricos em proteínas envolvem a superfície do fio de sutura logo após o procedimento cirúrgico e proporcionam um sítio ideal para a colonização por microrganismos. Além disso, o controle mecânico do biofilme é prejudicado pela dor e desconforto pós-operatório (MOHAN *et al.*, 2019; CHYE *et al.*, 2019; KARDE *et al.*, 2019).

Com a finalidade de prevenir e tratar as ISCs, foram incorporados agentes antimicrobianos aos fios de sutura ou em formulações tópicas, como, por exemplo, os fios de sutura revestidos com triclosan e os antissépticos orais com digluconato de clorexidina respectivamente (TUMMALAPALLI *et al.*, 2016; KARDE *et al.*, 2019; COSOLA *et al.*, 2019).

No entanto, existe uma preocupação quanto aos problemas de segurança biológica relacionados ao uso do triclosan, além de já apresentar resistência bacteriana devido ao uso indiscriminado em diversos produtos de higiene

(YAZDANKHAH *et al.*, 2006; COONEY, 2010; SEYDIBEYOĞLU; AYŞE, 2020; SYUKRI *et al.*, 2020). Do mesmo modo, a clorexidina é o antimicrobiano padrão ouro para os cuidados domiciliares após cirurgia bucal, por ser seguro e eficiente na redução da carga microbiana, todavia o seu uso prolongado pode acarretar vários efeitos adversos (GROPPO *et al.*, 2002; FARIA *et al.*, 2011; COSOLA *et al.*, 2019).

Por esses fatores, há um interesse no desenvolvimento de terapias alternativas. Os Óleos essenciais (OEs) são fontes ricas de emergentes terapias antimicrobianas e de combate a resistência microbiana. A natureza hidrofóbica e a combinação de compostos presente na composição química dos OEs diminuem o risco de resistência microbiana, devido aos diversos mecanismos de ação (NI *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2021).

Lippia sidoides Cham., popularmente conhecida como “Alecrim-pimenta”, é um arbusto aromático nativo do semiárido do Nordeste brasileiro e norte do estado de Minas Gerais (COSTA *et al.*, 2007; MORAIS *et al.*, 2016). O óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (OELS) contém o timol e o carvacrol como seus compostos majoritários e apresenta atividades biológicas antibacterianas, antifúngicas, antioxidante, anestésica local e anti-inflamatórias (VERAS *et al.*, 2017; BALDIM *et al.*, 2019). Pesquisas já observaram a atividade antimicrobiana do OELS contra *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans* (BRITO *et al.*, 2015; VERAS *et al.*, 2017).

Um estudo *in vivo* avaliou o grau de toxicidade aguda e subcrônica do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. Para a análise de toxicidade aguda em camundongos, foram administradas doses entre 100 e 300 mg/kg do óleo essencial via oral. Foi concluído que não houve alterações de comportamento em nenhuma das doses administradas, desprovido de toxicidade aparente calculada entre 110.61–125.29 mg/kg. Para a análise da toxicidade subcrônica em ratos wistar, houve a administração oral por 30 dias de OELS (117,95 mg/kg/dia). Não foram observadas alterações histopatológicas, hematológicas ou bioquímicas séricas significativas (FONTENELLE *et al.*, 2007).

A permanência de formulações em mucosa bucal é restrita devido aos movimentos para a fala, deglutição e a ação de limpeza da saliva. Os géis *in situ* são sistemas de liberação de fármacos que, uma vez em contato com a

temperatura corporal, sofrem transição de solução para gel. Formulações em géis *in situ* mucoadesivos de Popoxamer 407 (P407) e Quitosana (Q) podem ser vantajosas, pois prolongaram o tempo de permanência na mucosa, melhoraram a adesão ao tratamento e o conforto do paciente (UR-REHMAN; TAVELIN; GRÖBNER, 2011; CHAUDHARY; VERMA, 2014; BANSAL *et al.*, 2018; COELHO JUNIOR *et al.*, 2021).

O objetivo do presente trabalho consiste no desenvolvimento, na realização de caracterizações morfológicas e físico-químicas e na avaliação da atividade antimicrobiana de géis *in situ* de P407 e Quitosana carregados com OELS para liberação controlada em mucosa bucal.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Infecção do Sítio Cirúrgico

As infecções associadas aos cuidados de saúde são infecções adquiridas pelos pacientes durante sua permanência nos locais onde são prestados os serviços de saúde, como os hospitais, ambulatorios, clínicas, atendimento domiciliar, entre outros. Até o presente, é um grande problema em todo o mundo, e as Infecções do Sítio Cirúrgico (ISCs) são as mais comuns (BARLEAN *et al.*, 2019; KOLASIŃSKI, 2019).

O termo ISCs foi introduzido pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos em 1992 e substituiu o termo “infecção de ferida operatória”. As ISCs possuem uma incidência estimada em 2 a 11% para todas as intervenções cirúrgicas, podendo corresponder entre 160.000 a 300.000 ISCs a cada ano (GARNER; ANDERSON, 2016; KOLASIŃSKI, 2019; SAHTOE *et al.*, 2021).

Clinicamente a infecção é diagnosticada pela presença dos sinais de inflamação como dor, aumento da temperatura local, edema e eritema na área afetada, e pela produção de secreção purulenta. Dessa forma, o paciente pode necessitar de novas intervenções. Como consequência, as ISCs impactam no aumento substancial dos custos dos tratamentos, prolongam a internação hospitalar e aumentam a morbidade e mortalidade. Além disso, podem causar cicatrizes desfigurantes, que são capazes de afetar a qualidade de vida do indivíduo (BARLEAN *et al.*, 2019; KOLASIŃSKI, 2019; CHUA *et al.*, 2022).

As ISCs acometem as áreas da incisão ou próximas a elas e/ou tecidos e órgãos subjacentes dentro de 30 dias após a intervenção, ou dentro de um ano, caso haja implante de prótese. A resistência microbiana e as comorbidades dos pacientes tornam o tratamento um desafio (SYUKRI *et al.*, 2020; CHUA *et al.*, 2022).

Diversos são os fatores de risco relacionados às ISCs, no que se refere ao paciente. Publicações científicas citam: idade avançada, diabetes, tabagismo, infecção pré-existente e contaminação por *Staphylococcus aureus* e outros patógenos (OWENS; STOESSEL 2008; SYUKRI *et al.*, 2020; CHUA *et al.*, 2022).

Um estudo com o objetivo de identificar os fatores de risco para infecções pós-operatórias, observou que, em geral as ISCs estão relacionadas a fatores pertinentes ao paciente e não ao procedimento (DOMINIONI *et al.*, 2006), ainda assim, a qualidade da técnica cirúrgica, duração da operação, preparo pré-operatório da pele e esterilização inadequada dos instrumentos cirúrgicos são fatores que podem ser apontados (OWENS; STOESSEL, 2008; CHUA *et al.*, 2022).

As particularidades anatômicas da cavidade bucal são responsáveis pelas diferenças entre as lesões orais e as de outras partes do corpo humano em termos de propensão à ocorrência de ISC. As infecções de lesões em cirurgia bucal podem variar de 2 a 12%. Apesar da cicatrização bucal das lesões cirúrgicas seguirem os princípios gerais conhecidos da cicatrização, existem algumas peculiaridades (COSTA NETO *et al.*, 2015; BARTELLA *et al.*, 2018; DRAGOVIC *et al.*, 2020).

No que diz respeito a ISC, as intervenções cirúrgicas bucomaxilofaciais ocorrem em um ambiente de fato semi-contaminado, a mucosa bucal é colonizada por uma densa população bacteriana que, acrescido com detritos alimentares, formam biofilme e facilitam a infecção da lesão. Além disso, as lesões orais não podem ser facilmente imobilizadas devido às funções dos tecidos orais como a mastigação, a fonação e a deglutição, que são essenciais para o bem-estar do paciente (LOVATO; WAGNER, 2009; BARTELLA *et al.*, 2018; DRAGOVIC *et al.*, 2020).

O acúmulo de biofilme microbiano é um dos principais agravos nos cuidados após procedimentos cirúrgicos bucomaxilofaciais. Segundo o Center for Disease Control and Prevention (CDC) EUA aproximadamente 65% de todas as infecções bacterianas em humanos são causadas por biofilmes (AMORA-SILVA *et al.*, 2019).

O biofilme consiste no agrupamento de células bacterianas com um alto grau de organização, unidas em uma estrutura multicelular e funcional, circundadas externamente por uma matriz polimérica, de exopolissacarídeos (EPS), confeccionada pelas próprias bactérias, com poder de adesão a superfícies vivas e inertes. Esse biofilme aderido confere resistência aos microrganismos e é composto por dois tipos celulares: as células sésseis, que se encontram unidas em adesão às superfícies e as células planctônicas, encontradas livres no meio, em

dispersão, e são as responsáveis pela formação de novos focos de biofilmes (MAUNDERS; WELCH, 2017).

Os microrganismos mais comumente isolados de ISCs são *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Staphylococcus coagulase negativa*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp., *Enterococcus* spp., *Citrobacter* spp., *Acinetobacter* spp. e *Staphylococcus epidermidis*. As superfícies dos dentes e mucosas, a própria ferida cirúrgica e as suturas são os locais onde podem ocorrer o acúmulo de biofilme microbiano na cavidade bucal. Em geral, os patógenos presentes nos biofilmes responsáveis pelas ISCs são da microbiota endógena do paciente e são sujeitos ao procedimento e a localização (OWENS; STOESSEL, 2008; SENGUPTA *et al.*, 2014).

O acúmulo de biofilme em superfícies acrílicas de próteses dentárias também torna o sítio cirúrgico suscetível a infecções fúngicas. *Candida albicans* é o principal patógeno envolvido nas infecções fúngicas orais por obter capacidade de colonizar superfícies bióticas, abióticas, e invadir o epitélio da mucosa, com potenciais complicações sistêmicas principalmente em pacientes imunocomprometidos (BERTOLINI; DONGARI-BAGTZOGLOU, 2019; COSTA *et al.*, 2019).

As suturas objetivam unir os tecidos incisados e favorecer o processo de cicatrização da ferida cirúrgica, ao mesmo tempo que representam um fator de risco para as ISCs. Logo após a sutura em mucosa bucal, os fluidos ricos em proteínas envolvem a superfície do fio de sutura e proporcionam um ambiente ideal para a colonização por microrganismos. Além disso, o fio de sutura permanece em média por 7 dias no local, período em que o controle do biofilme é prejudicado pela dor e desconforto pós-operatório, formando assim um foco de infecções (SCAFFARO *et al.*, 2012; MOHAN *et al.*, 2019; CHYE *et al.*, 2019; KARDE *et al.*, 2019).

Buscando promover o controle do acúmulo de biofilme principalmente na superfície do fio de sutura e prevenir as ISCs, foram incorporados agentes antimicrobianos aos fios de sutura ou em formulações administradas pelos pacientes em casa. Porém, até o momento, o único fio no mercado com ação antimicrobiana é o Vicryl Plus®, um fio de polilactato 910 revestido com triclosan

aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) nos EUA em 2002 (TUMMALAPALLI *et al.*, 2016; KARDE *et al.*, 2019).

Contudo, já existe resistência bacteriana devido ao uso indiscriminado do triclosan em diversos produtos de higiene, como em cremes dentais, sabonetes e enxaguatórios bucais. Além disso, foram verificados problemas de segurança, como efeitos adversos tóxicos graves gerados pelo seu metabolismo, afetando negativamente as funções imunológicas e a reprodução celular. Ademais, há uma frequente associação do uso do triclosan como um fator cancerígeno e poluente ambiental (YAZDANKHAH *et al.*, 2006; COONEY, 2010; SEYDIBEYOĞLU; AYŞE, 2020; SYUKRI *et al.*, 2020).

O uso de antissépticos para o controle da formação do biofilme sob o material de sutura é um protocolo já consagrado na odontologia. Atualmente, a clorexidina ainda é o antimicrobiano padrão ouro para os cuidados domiciliares após cirurgia bucal, por ser seguro e eficiente na redução da carga microbiana. Ainda assim, sabe-se que o seu uso prolongado pode acarretar alguns efeitos adversos, como manchamento dental, descamação da mucosa bucal, descoloração da língua, disgeusia e aumento da glândula parótida (GROPPO *et al.*, 2002; FARIA *et al.*, 2011; COSOLA *et al.*, 2019).

Por esses fatores, pesquisas estão se concentrando em outras opções terapêuticas, incluindo o uso de produtos naturais, como os óleos essenciais com potenciais antimicrobianos.

2.2 Óleos essenciais

Os produtos naturais (NPs) constituem uma grande diversidade de entidades químicas com uma gama de atividades biológicas que dispõem de múltiplas aplicações em saúde. O termo “NPs” é comumente empregado para se referir aos metabólitos secundários ou compostos isolados de origem vegetal, animal, mineral, microbiana, entre outros (KATZ; BALTZ, 2016; PHILIP; LEISHMAN; WALSH, 2019).

Conforme registros fósseis, o uso de plantas por humanos para tratar doenças pode ser verificado há pelo menos 60.000 anos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) listou um total de 21.000 plantas que são largamente utilizadas

em todo o mundo com efeitos medicinais e as aponta como sendo a melhor fonte para a obtenção de compostos com potencial terapêutico (OMS, 2002; YUAN *et al.*, 2016; ANAND *et al.*, 2019).

Ao se defenderem de patógenos, como bactérias, fungos e leveduras, as plantas produzem uma variedade de metabólitos secundários que são encontrados em suas partes como em sementes, cascas, caule, folhas, flores, frutos e raízes. Alguns metabólitos secundários como os taninos, alcalóides, ácidos fenólicos, terpenóides, flavonóides, saponinas, entre outros, portam atividades antimicrobianas promissoras (DAS; SATYAPRAKASH, 2018; MANANDHAR; LUITEL; DAHAL, 2019).

Dentre os PNs derivados de plantas, os óleos essenciais (OEs) são fontes ricas de emergentes terapias antimicrobianas e combate à resistência microbiana. Os OEs são compostos concentrados, líquidos, de estrutura complexa, aromáticos, lipossolúveis e também são denominados como óleos voláteis, etéreos ou essenciais. Seus constituintes são moléculas orgânicas produzidas pelo mecanismo de defesa das plantas contra predadores, microrganismos ou alterações climáticas (BAKKALI *et al.*, 2008; FREIRES *et al.*, 2015).

Mais de 3.000 variedades de OEs foram identificados, dos quais mais de 300 são de interesse das indústrias alimentícia, agronômica, cosmética e farmacêutica. Suas composições podem variar em qualidade, quantidade e na fração dos compostos e isso depende de fatores como localização geográfica, variação sazonal, clima, órgão vegetal, ano de cultivo, subespécie e método de extração do óleo (BILIA *et al.*, 2014; GARCÍA-SALINAS *et al.*, 2018).

Em geral, os OEs são obtidos como resultado de hidrodestilação, destilação a vapor, hidrodifusão ou por extração com solvente de partes da planta como folhas, caules, flores, frutos, cascas e raízes. Os OEs são formados por uma mistura variável que consiste principalmente de terpenos, em especial monoterpenos e sesquiterpenos; terpenóides, como os compostos oxigenados como fenóis, álcoois, aldeídos, cetonas ou éteres; e compostos aromáticos. Ademais podem conter outros compostos, como ácidos graxos, óxidos e derivados de enxofre (TONGNUANCHAN, BENJAKUL, 2014; STRINGARO; COLONE; ANGIOLELLA, 2018; MAN *et al.*, 2019).

Os OEs podem conter mais de 60 componentes e até mais de 100 substâncias isoladas, em concentrações bastante variadas, essa característica influi diretamente nas atividades biológicas do óleo. Em geral, dois ou três componentes são majoritários e estão em maiores teores, entre 20 a 70%, enquanto os outros componentes estão presentes em baixas concentrações. Estudos apontam que cerca de 60% desses compostos possuem atividades antifúngicas e 35% atividades antibacterianas (SANTOS *et al.*, 2010; STRINGARO; COLONE; ANGIOLELLA, 2018).

Apesar de a atividade antimicrobiana dos OEs ser atribuída apenas a determinados compostos específicos, como, por exemplo, carvacrol, timol e naringenina, alguns desses compostos isolados apresentam atividade fraca e espectro de ação limitado quando comparado aos OEs. Indicando haver sinergismo de ação quando todos esses compostos agem juntos (BARRETO *et al.*, 2014; GIRARD; BEE, 2020).

Estudos apontam que os OEs inibem o crescimento microbiano afetando a bicamada fosfolipídica e o mecanismo enzimático de produção e metabolismo de energia, danificando a estrutura e a função da membrana celular bacteriana. Dessa forma, a natureza hidrofóbica e a composição química dos OEs diminuem o risco de resistência microbiana, dado a diversidade de mecanismos de ação que abrangem uma combinação de compostos (NI *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2021).

2.3 Óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. como antimicrobiano bucal

Dentre os OEs com atividade antimicrobiana, pode-se destacar o óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (OELS). *Lippia* é o segundo maior gênero entre os 100 pertencentes a família Verbenaceae, e possui aproximadamente 200 espécies. Inclui diversas espécies medicinais e aromáticas, que podem ser encontradas na América Central, África tropical e América do Sul, onde cerca de 75% das espécies conhecidas estão no Brasil (GOMES; NOGUEIRA; MORAES, 2011; O'LEARY *et al.*, 2012; VERAS *et al.*, 2014).

Lippia sidoides Cham., popularmente conhecida como “Alecrim-pimenta”, é um arbusto aromático, ereto, ramificado e quebradiço que pode medir de 2 a 3 metros, nativo do semiárido do Nordeste brasileiro e norte do estado de Minas

Gerais. É amplamente empregado na medicina popular como antisséptico, que, em geral, é preparada por maceração das folhas em álcool ou aplicada diretamente de forma tópica na pele, mucosas, boca e garganta (COSTA *et al.*, 2007; MORAIS *et al.*, 2016).

A literatura apresenta um extenso acervo sobre as propriedades do OELS, atividades biológicas antifúngicas, antibacterianas, antioxidante, anestésica local e anti-inflamatórias foram comprovadas cientificamente. Diante de todos os benefícios, a *Lippia sidoides* Cham. foi incluída na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde, a RENISUS, publicada em 2009 pelo Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2009^a; BRASIL, 2009^b; BRASIL, 2011; BALDIM *et al.*, 2019).

Um estudo *in vivo* avaliou o grau de toxicidade aguda e subcrônica do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. Para a análise de toxicidade aguda em camundongos, foram administradas doses entre 100 e 300 mg/kg do óleo essencial via oral. Foi concluído que não houve alterações de comportamento em nenhuma das doses administradas, desprovido de toxicidade aparente calculada entre 110.61–125.29 mg/kg. Para a análise da toxicidade subcrônica em ratos wistar, houve a administração oral por 30 dias de OELS (117,95 mg/kg/dia). Não foram observadas alterações histopatológicas, hematológicas ou bioquímicas séricas significativas (FONTENELLE *et al.*, 2007).

Formulações de produtos bucais (tabela 1) como espuma e creme dental (NUNES *et al.*, 2013; SILVEIRA, 2018), colutório (GIRÃO *et al.*, 2003; BOTELHO *et al.*, 2009; NUNES *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2013), limpador de prótese (BARRETO *et al.*, 2021), fio de sutura (LINDEN *et al.*, 2018) e gel (BOTELHO *et al.*, 2007; RODRIGUES *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2013) contendo OELS foram desenvolvidas e avaliadas para o controle de biofilme microbiano em concentrações que variaram de 0,5 a 20%.

Tabela 1. Estudos que desenvolveram formulações orais contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham.

ESTUDO	FORMULAÇÃO	TIPO DE ESTUDO	APLICAÇÃO
GIRÃO <i>et al.</i> (2003)	Colutório	<i>In vivo</i> em modelo animal (cães adultos)	Controle de placa e gengivite
BOTELHO <i>et al.</i> (2007)	Gel	<i>In vivo</i> em modelo animal (camundongos)	Periodontite
BOTELHO <i>et al.</i> (2009)	Colutório	<i>In vivo</i> em humanos	Controle de placa e gengivite
RODRIGUES <i>et al.</i> (2009)	Gel	<i>In vivo</i> em humanos	Controle de placa e gengivite
NUNES <i>et al.</i> (2013)	Creme dental e Colutório	<i>In vivo</i> em humanos	Controle de placa e gengivite
RODRIGUES <i>et al.</i> (2013)	Colutório	<i>In vivo</i> em humanos	Controle de placa e gengivite
SILVA <i>et al.</i> (2013)	Gel	<i>In vivo</i> em humanos	Controle de placa e gengivite
LINDEN <i>et al.</i> (2018)	Revestimento para fio de sutura	<i>In vitro</i> frente cepas de <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> .	Antimicrobiano (Prevenção de Infecções do sítio cirúrgico)
SILVEIRA (2018)	Espuma dental	<i>In vivo</i> em humanos	Antimicrobiano (Prevenção e tratamento de mucosite oral)
BARRETO <i>et al.</i> (2021)	Limpador de prótese	<i>In vitro</i> frente cepas de <i>C. albicans</i> , <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i> .	Antimicrobiano (Prevenção e tratamento de estomatite protética)

Fonte: Autor, 2023.

Silveira (2018) avaliou em um ensaio clínico randomizado a atividade antimicrobiana e a citotoxicidade de uma espuma contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. 0,5% associado com *Cymbopogon citratus* e *Citrus limon* para prevenção e tratamento de mucosite oral em pacientes saudáveis. A formulação de espuma apresentou redução de bactérias em uma utilização do produto por 01 minuto e o uso tópico foi citológico e clinicamente seguro.

Nunes *et al.* (2013) avaliaram um creme dental e um colutório à base do extrato hidroalcoólico de *Lippia sidoides* Cham. como coadjuvante da higiene bucal no controle do biofilme dentário em voluntários humanos. Após 28 dias de uso, os resultados demonstraram que o creme dental e o colutório foram eficientes como

coadjuvante no controle do biofilme dentário, pois, reduziram de forma significativa o índice de biofilme dentário e foram superiores aos grupos controles (creme dental de uso diário e solução de cloreto de cetilpiridíneo).

De modo semelhante, Botelho *et al.* (2009) testaram um colutório com OELS 1% em humanos e observaram uma redução significativa no índice de placa dental após 7 dias de uso. Porém, sensação de queimação e alteração no paladar foram relatados por participantes tratados. Ainda assim, estudos em humanos com formulações contendo uma maior concentração do OELS (10%) (RODRIGUES *et al.*, 2009; RODRIGUES *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2013) obtiveram boa aceitação e nenhum efeito adverso foi relatado.

Barreto *et al.* (2021) avaliaram *in vitro* a atividade de um limpador de prótese contendo OELS frente as cepas *C. albicans*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* e encontraram ação antimicrobiana contra os patógenos testados com concentrações inibitórias mínimas de 19,53 µg/mL, 78,12 µg/mL e 625 µg/mL respectivamente, bem como reduziu a atividade metabólica do biofilme *C. albicans* em até 97% em baixas concentrações (195,3–390,6 µg/mL) e em curta duração de 20 minutos.

Linden *et al.* (2018) cobriram com OELS um fio de sutura de Poliglactin 910 e observaram a atividade antibacteriana do fio pelo método de difusão em ágar e biofilme monoespécie. O fio de sutura com triclosan (Vycril® Plus) foi usado como controle positivo. O valor de CIM do LSEO foi < 15 µg/mL para as cepas *S. aureus* e *E. coli*. O fio coberto com OELS e o controle positivo apresentaram o mesmo diâmetro de halos de 20mm frente a cepa *S. aureus*, já contra *E. coli*, o fio teste e o controle positivo obtiveram halos de 5 e 3mm respectivamente. Os fios apresentaram efeito antiaderente bacteriano semelhantes.

Outro estudo avaliou um gel contendo OELS 0,5% usando um modelo experimental de periodontite em camundongos (BOTELHO *et al.*, 2007). O gel foi aplicado 3 vezes ao dia por 11 dias e reduziu significativamente a perda óssea alveolar. Os resultados demonstram o potencial efeito protetor do gel contra a destruição do tecido periodontal. Esse efeito parece estar relacionado à atividade antimicrobiana do OELS contra as bactérias periodontais. Nesse mesmo estudo,

foi testado um gel de L. sidoides 0,5% e Myracrodruon urundeuva 5%, essa associação apresentou efeito sinérgico e permitiu melhores resultados que os géis contendo os óleos isolados.

Os compostos químicos mais expressivos nos OEs das espécies de Lippia são o limoneno, citral, carvacrol, β -mirceno, cânfora e timol. Majoritariamente são encontrados os compostos fenólicos timol e carvacrol, sendo suas quantidades variáveis de acordo com fatores naturais, estando relacionados as suas atividades biológicas. No entanto, os outros compostos presentes também participam do efeito terapêutico formando assim um fitocomplexo (VERAS *et al.*, 2017; MOTA; DANTAS; FROTA, 2018; BALDIM *et al.*, 2019).

Esses componentes voláteis de natureza lipídica presentes nos OEs atravessam a membrana celular do microrganismo e afetam o transporte dos íons e solutos, levam a perda de íons e reduzem o potencial da membrana, causando um colapso celular resultando no extravasamento de materiais intracelulares e provocando a morte celular (PÉREZ ZAMORA; TORRES; NUÑEZ, 2018; NI *et al.*, 2021).

Os principais componentes dos OEs geralmente são sensíveis e podem sofrer alterações irreversíveis se forem expostos a materiais ou agentes externos como oxigênio, luz e calor. As tecnologias de nanoencapsulação mostram-se como uma solução útil e eficaz para a proteção contra problemas de instabilidade, além disso, podem melhorar a solubilidade do produto, liberar de forma controlada as substâncias e potencializar a atividade biológica (MUNIN; EDWARDS-LÉVY, 2011; SHERRY *et al.*, 2013; BALDIM *et al.*, 2019).

2.4 Gel *in situ* de Poloxamer 407 e Quitosana

Os poloxâmeros são polímeros termossensíveis que foram introduzidos no final da década de 1950 e desde então têm sido extensamente empregados no desenvolvimento de formulações farmacêuticas, como os sistemas de géis *in situ*. Esses polímeros são copolímeros tribloco do tipo ABA, formados por unidades de polioxietileno (A) e polioxipropileno (B). O Poloxamer 407 (P407), também conhecido pela marca registrada Pluronic® F127 (BASF Laboratory, Wyandotte,

EUA), é um tipo de copolímero tribloco ABA e BAB hidrossolúveis não-iônicos (SCHMOLKA, 1994; DUMORTIER *et al.*, 2006; GIULIANO *et al.*, 2018).

Por efeito da sua estrutura química, em soluções aquosas, o P407 exibe uma natureza anfifílica baseada na solubilidade em água das unidades (A) e na lipossolubilidade das unidades (B), o que os dá uma característica surfactante útil. Somado a sua boa capacidade solubilizante, baixa toxicidade, não irritante das biomembranas, liberação de drogas satisfatória e compatibilidade com diversas biomoléculas e excipientes químicos, o P407 torna-se promissor para formulações de géis *in situ* (DUMORTIER *et al.*, 2006; MANSURI *et al.*, 2016; BODRATTI; ALEXANDRIDIS, 2018).

O termo *In situ* é do latim e pode ser traduzido literalmente como “No local”. Os géis *in situ* são sistemas de liberação de fármacos que se apresentam em soluções quando estão em temperatura ambiente e uma vez administrados no organismo sofrem gelificação e se tornam géis. Formulações em géis mucoadesivos podem ser vantajosas por prolongarem o tempo de permanência na mucosa, reduzirem a frequência de aplicação e a concentração do fármaco administrado, melhorando, dessa forma, a adesão ao tratamento e o conforto do paciente (CHAUDHARY; VERMA, 2014; RANCH *et al.*, 2021).

Chaudhary e Verma (2014) desenvolveram um gel *in situ* contendo aciclovir, um agente antiviral, para o tratamento de infecções orais por herpes simples. Estudos de liberação de drogas mostraram propriedades de liberação sustentada. O efeito de primeira passagem é evitado pela administração via mucosa bucal e somado ao aumento da biodisponibilidade do aciclovir o torna uma alternativa para a administração local e sistêmica do fármaco.

As propriedades termossensíveis podem ser moduladas por formação de ligações cruzadas iônicas, irradiação UV, mudanças de pH e temperatura. O mecanismo de termogelificação *in situ* não está sujeito a ação de agentes externos, uma vez que a gelificação ocorre com o aumento da temperatura. Este aumento da temperatura intensifica as características apolares do polímero e reorganiza as micelas de P407 em uma estrutura cúbica seguida uma configuração hexagonal. Formulações com concentrações de P407 de 15 a 30% podem gelificar à

temperatura corporal (37°C) (RUEL-GARIÉPY; LEROUX, 2004; CARAMELLA *et al.*, 2015; CHEN *et al.*, 2021).

São várias as razões pelas quais a mucosa bucal é atraente para a entrega de agentes terapêuticos: acessibilidade, abundante suprimento sanguíneo, desvio do metabolismo hepático de primeira passagem, rápida cicatrização e perfil de permeabilidade (HEARNDEN *et al.*, 2012).

Contudo, a permanência do gel de poloxâmero em mucosas é restrita por sua dissolução rápida sob condições fisiológicas, em especial na mucosa bucal, onde os movimentos para a fala, deglutição e a ação de limpeza da saliva são obstáculos. Formulações de P407 associadas com substâncias poliméricas mucoadesivas como a quitosana, têm sido desenvolvidas objetivando contornar essa limitação, através da sua interação com as unidades de polioxietileno do P407, melhorando a resistência, mucoadesividade e tempo de residência dos géis (GRATIERI *et al.*, 2010; UR-REHMAN; TAVELIN; GRÖBNER, 2011; CHAUDHARY; VERMA, 2014; BANSAL *et al.*, 2018; COELHO JUNIOR *et al.*, 2021).

A quitosana é biopolímero natural e biocompatível obtida pelo processo de desacetilação alcalina da quitina, um polissacarídeo abundante extraído do exoesqueleto de crustáceos e da parede celular de alguns fungos. Possui propriedades desejáveis, como biocompatibilidade, biodegradabilidade, não toxicidade, mucoadesividade, efeito hemostático e atividade antimicrobiana e antifúngica (PEDRO *et al.*, 2009; DHILLON *et al.*, 2012; AGUILAR *et al.*, 2019; QIN; LI, 2020).

Uma outra característica que torna a quitosana um biopolímero promissor para aplicações farmacêuticas é a sua capacidade de carregamento de fármacos e compostos bioativos em diversas formas de processamento, como em soluções, filmes, géis, micropartículas, entre outros (KUMARI; YADAV; YADAV, 2010; ZHANG *et al.*, 2021).

A mucoadesão pode ser definida como a capacidade da forma farmacêutica se aderir ao muco carregado negativamente e as biomembranas. Esse processo é multifatorial e parece ocorrer pela combinação de vários mecanismos. A

mucoadesividade da quitosana, de natureza policatiónica, proporciona maior tempo de contato da formulação com a mucosa. Apesar de a atração eletrostática ser apontada como um dos principais mecanismos, responsável pelo fenômeno da mucoadesividade, esta é potencializada pela presença de pontes de hidrogênio, forças de Van der Waals e hidrofobicidade (SOGIAS; WILLIAMS; KHUTORYANSKIY, 2008; SAIKIA; GOGOI; MAJI, 2015; GIULIANO *et al.*, 2018).

O desenvolvimento de um gel *in situ* termossensível e mucoadesivo de Poloxamer 407 e Quitosana para liberação controlada do OELS em mucosa bucal ainda não foi relatado na literatura. A proposta do presente trabalho consiste no desenvolvimento de uma dispersão de P407 e Quitosana carregada com OELS para liberação controlada com atividade antimicrobiana.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver e caracterizar géis *in situ* de Poloxamer 407 e Quitosana para liberação controlada do OELS com atividade antimicrobiana.

3.2 Objetivos Específicos

- Analisar a composição química do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (OELS);
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do OELS para cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*;
- Produzir e avaliar géis *in situ* para liberação controlada de OELS composto por microcápsulas de P407 com e sem Quitosana;
- Realizar caracterizações morfológicas e físico-químicas das amostras de géis;
- Avaliar a atividade antimicrobiana frente as cepas de *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans in vitro* dos géis obtidos.

4. ARTIGO

Materials - Impact Factor: 3.748 (2021)

Desenvolvimento e avaliação antimicrobiana de géis *in situ* carregados com óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham.

Maria VO Dantas^{1*}, Paulo RF Bonan², Fábio C Sampaio²

¹ Aluna do Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil;

² Departamento de Clínica e Odontologia Social. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil;

*Autor correspondente: mvod@academico.ufpb.br

ABSTRACT

This article consists of the development, the realization of physicochemical characterizations and the evaluation of the antimicrobial activity of *in situ* gels of Poloxamer (P407) and Chitosan loaded with essential oil of *Lippia sidoides* Cham. (OELS). *In situ* gels of P407 with and without Chitosan loaded with OELS at concentrations of 1%, 0.5% and 0.25% were made. Gels formulated with only the polymers and 0.9% saline were used as negative controls. Positive controls were chlorhexidine 0.12% and nystatin. The major component of OELS was thymol (57,85%). The OELS showed MIC 256, 128 and 128 µg/mL against strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* respectively. The particle size and the PDI of the microcapsules of the groups without Chitosan (134.35±24.49 nm; PDI 0.295±0.045) were smaller when compared to the groups containing Chitosan (429.15±72.47 nm; PDI 0.57±0.09). Only formulations with Chitosan showed positive PZ (+5.995±1.288). Temperatures (Tsol-gel) were between 20-28 °C, with times (Tsol-gel) at 37° ranging from 18.76 ± 1.24 s to 46.46 ± 8.89 s. *In situ* gels showed pseudoplastic behavior in rheological analysis. Gels with OELS presented MIC 5 µg/mL and obtained promising stable characteristics for application in buccal mucosa.

Keywords: Surgical Wound Infection; Óleo Volátil; Poloxamer; Chitosan; Microbial Sensitivity Tests.

1. INTRODUÇÃO

O acúmulo de biofilme microbiano está entre as principais causas de Infecções do Sítio Cirúrgico (ISCs) em intervenções bucomaxilofaciais, principalmente pela cavidade bucal ser um ambiente semi-contaminado e pelo controle mecânico do biofilme ser prejudicado pela dor e desconforto pós-operatório [1-3].

Com a finalidade de prevenir e tratar as ISCs, foram incorporados agentes antimicrobianos aos fios de sutura ou em formulações administradas pelos pacientes em casa, como por exemplo, os fios de sutura revestidos com triclosan e os antissépticos orais com digluconato de clorexidina respectivamente [4-6].

Existe apenas um fio de sutura revestido com triclosan (Vicryl Plus ®) no mercado, com alto valor comercial. No entanto, há uma preocupação quanto aos problemas de segurança biológica relacionados ao uso do triclosan, além de já apresentar resistência bacteriana devido ao uso indiscriminado em diversos produtos de higiene [7-10]. Do mesmo modo, a clorexidina é o antimicrobiano padrão ouro para os cuidados domiciliares após cirurgia bucal, por ser seguro e eficiente na redução da carga microbiana, todavia o seu uso prolongado pode acarretar vários efeitos adversos [4,11,12].

São várias as razões pelas quais a mucosa bucal é atraente para a entrega de agentes terapêuticos: acessibilidade, abundante suprimento sanguíneo, desvio do metabolismo hepático de primeira passagem, rápida cicatrização e perfil de permeabilidade. Contudo, as formas convencionais de terapia local, como as soluções de enxágue com agentes antimicrobianos, não permanecem em contato com a mucosa por serem facilmente lavadas pela ação da saliva [13].

Os géis *in situ* são sistemas de liberação de fármacos que se apresentam em soluções quando estão em temperatura ambiente e uma vez administrados no organismo sofrem gelificação. Formulações em géis mucoadesivos podem ser vantajosas por permitirem uma aplicação em spray, prolongarem o tempo de permanência na mucosa, reduzirem a frequência de aplicação e a concentração da substância administrada, sendo capaz de melhorar a adesão ao tratamento e o conforto do paciente [14,15].

Os poloxâmeros são polímeros termossensíveis que foram introduzidos no final da década de 1950 e desde então têm sido extensamente empregados no desenvolvimento de formulações farmacêuticas, como os sistemas de géis *in situ*. Esses polímeros são copolímeros tribloco do tipo ABA, formados por unidades de polioxietileno (A) e polioxipropileno (B). O Poloxamer 407 (P407), também conhecido pela marca registrada Pluronic® F127 (BASF Laboratory, Wyandotte, EUA), é um tipo de copolímero tribloco ABA e BAB hidrossolúveis não-iônicos. Formulações com concentrações de P407 de 15 a 30% podem gelificar à temperatura corporal (37°C) [16-21].

Por efeito da sua estrutura química, em soluções aquosas o P407 exibe uma natureza anfifílica baseada na solubilidade em água das unidades (A) e na lipossolubilidade das unidades (B), o que os dá uma característica surfactante útil. Somado a sua boa capacidade solubilizante, baixa toxicidade, não irritante das biomembranas, liberação de drogas satisfatória e compatibilidade com diversas biomoléculas e excipientes químicos, o P407 torna-se promissor para formulações de géis *in situ* [18,22,23].

Contudo, a permanência do gel de poloxâmero em mucosa bucal é restrita por sua dissolução rápida sob condições fisiológicas, em especial na mucosa bucal, onde os movimentos para a fala, deglutição e a ação de limpeza da saliva são obstáculos. Formulações de P407 associadas com substâncias poliméricas mucoadesivas como a Quitosana (Q), têm sido desenvolvidas objetivando contornar essa limitação, através da sua interação com as unidades de polioxietileno do P407, melhorando a resistência, mucoadesividade e tempo de residência dos géis [14,24- 27].

Os óleos essenciais (OEs) são fontes ricas de emergentes terapias antimicrobianas e de combate à resistência microbiana. A natureza hidrofóbica e a combinação de compostos presente na composição química dos OEs diminuem o risco de resistência microbiana, devido aos diversos mecanismos de ação [28,29].

Lippia sidoides Cham., popularmente conhecida como “Alecrim-pimenta”, é um arbusto aromático nativo do semiárido do Nordeste brasileiro e norte do estado de Minas Gerais [30,31]. O óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (OELS) contém o timol e o carvacrol como seus compostos majoritários e apresenta atividades

biológicas antibacterianas, antifúngicas, antioxidante, anestésica local e anti-inflamatórias [32,33]. Pesquisas já observaram a atividade antimicrobiana do OELS contra *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans* [33,34].

Um estudo *in vivo* avaliou o grau de toxicidade aguda e subcrônica do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. em camundongos e ratos wistar respectivamente. Foi concluído que não houve alterações de comportamento com as doses administradas, desprovido de toxicidade aparente calculada entre 110.61–125.29 mg/kg. Após administração oral por 30 dias de OELS (117,95 mg/kg/dia) não foram observadas alterações histopatológicas, hematológicas ou bioquímicas séricas significativas [35].

Uma visão abrangente da literatura atual mostra diversos estudos sobre o encapsulamento de OEs. Zanotto et al. (2023) [36] investigaram a atividade antimicrobiana e antioxidante de nanoemulsões lipídicas carregadas com OEs de *Thymus vulgaris*, *Lippia sidoides* e *Cymbopogon citratus*. As nanoemulsões com *Thymus vulgaris* e *Lippia sidoides* exibiram melhores propriedades antimicrobianas contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Penicillium* sp., *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum* e *Candida albicans*. Baldim et al. (2019) [32] e Baldim et al. (2020) [37] encapsularam OELS em nanopartículas lipídicas e obtiveram um sistema antimicrobiano promissor, com potente atividade contra *Candida albicans* e *Candida auris* multirresistente respectivamente.

Como hipótese, propomos que o encapsulamento do OELS em um gel composto por polímeros (P407+Quitosana) possa conferir características de termogelificação, estabilidade e mucoadesão ao gel, promover proteção aos constituintes voláteis do óleo essencial e potencializar sua atividade antimicrobiana.

O objetivo do presente trabalho consiste no desenvolvimento, na realização de caracterizações morfológicas e físico-químicas e na avaliação da atividade antimicrobiana de géis *in situ* de P407 carregadas com OELS e incrustadas com Quitosana para liberação controlada em mucosa bucal.

2. METODOLOGIA

2.1 Produtos químicos

Para o desenvolvimento do gel *in situ*, foram utilizados Poloxamer 407 (pureza >99%, massa molar 12600g/mol, 30% PPO), Quitosana de baixo peso molecular (>75% de desacetilação, peso molecular 50-190 KDa), Tripolifosfato de Sódio (TPP) (grau técnico 85%, peso molecular 367,86g/mol), Tween 80 (Sigma®), Água ultrapura, obtida a partir de um Sistema Master System MS2000 GEHAKA e Óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (OELS).

2.2 Óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham.

Os arbustos adultos de *Lippia sidoides* Cham. foram coletados do Horto de Plantas Medicinais da UFPB, no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) localizado no município de João Pessoa, Paraíba, nordeste do Brasil com coordenadas de 43 metros de altitude, Latitude: 7° 6' 55" Sul, Longitude: 34° 51' 40" Oeste, em março de 2019, entre 06:00 a 07:00 horas. A identificação botânica da planta foi realizada e a exsicata foi incorporada sob o número JPB 47237, ao acervo do Herbário Prof. Lauro Pires Xavier na UFPB. Com registro SisGen de número ABDE352, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos. A técnica utilizada para a extração do óleo foi o arraste à vapor de água das partes aéreas da planta, pelo equipamento mini destilador de óleos essenciais (Modelo D2- v5.2-Linux). A densidade do OELS foi determinada utilizando um picnômetro a 25 °C em triplicata e o pH foi verificado por potenciometria em quatro repetições.

A composição química do óleo essencial foi determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massa (CG-EM) realizada em um instrumento da marca Shimadzu, modelo GCMS-QP 2010 Ultra com coluna da marca RTX-5MS capilar (5% Difetil / 95% dimetilpolisiloxano) com tamanho de 30m (comprimento) / 0.25 mm de diâmetro Interno / 0.25 µm. A temperatura inicial da coluna variou de 60 °C a 90 °C a 5 °C/min., permanecendo a 90 °C por 15 minutos e de 90 °C a 280 °C a 20 °C/min. A temperatura do injetor e do detector foram 260 e 280 °C, respectivamente. O tempo total de corrida foi de 30 minutos e o volume de injeção foi de 1,0 µL. A identificação dos constituintes foi realizada por meio de

busca por dados encontrados na literatura e biblioteca do equipamento (Bancos de Dados: NIST2008 | NIST2008+Shimadzu | FFNSC 1.3).

2.3 Confeção dos géis *in situ*

O desenvolvimento dos géis *in situ* se deu em etapas [27]. A primeira etapa consistiu no preparo dos géis de P407 a 20% em água deionizada gelada sob agitação magnética (300rpm) (modelo HJ-5-220V - ION) por 10min. Os géis foram submetidos a 3 ciclos de refrigeração/agitação. Após completa solubilização visual do pó de P407, os géis foram mantidos em refrigeração a 6°C sem agitação durante 24 horas.

A segunda etapa consistiu no encapsulamento do OELS no gel de P407. O OELS foi solubilizado em Tween 80 5% e as concentrações do OELS correspondentes aos grupos contendo 1%, 0,5% e 0,25% foram adicionadas aos géis sob agitação magnética (600rpm) por 10min. As dispersões foram então submetidas a dois ciclos de refrigeração/agitação magnética, para obter máxima interação entre o OELS e unidades B do P407.

Para as dispersões correspondentes aos grupos que contêm Quitosana, foi então realizada a etapa de cobertura das microcápsulas. Inicialmente foi preparada uma solução de 1mg/mL de Quitosana em solução de ácido acético glacial a 1% (v/v), sob agitação magnética (300 rpm) durante 24 h. Após a fase de solubilização, 2,4 mL dessa solução foi vertida nas dispersões correspondentes a cada grupo, seguido de agitação magnética (300rpm) por 20min em temperatura ambiente.

Por fim, 200µL de solução tripolifosfato de sódio (1,5% m/v) foram gotejados nas dispersões correspondentes a todos os grupos confeccionados. Os 10mL de cada gel resultante foram mantidos sob agitação constante de 300rpm por 60min.

Dispersões de microcápsulas de P407 não cobertas por Quitosana e/ou não carregadas com OELS foram sintetizadas seguindo as mesmas etapas de desenvolvimento. Os géis compostos apenas por P407 obtiveram pH entre 6.7 e 6.9, já os compostos por P407+Q tiveram os pH ajustados entre 5.7 e 6. Os grupos de géis *in situ* formulados e as concentrações finais dos componentes estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Grupos de géis *in situ* e as concentrações finais.

	P407		OELS		Q		TPP	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
P	150	20	-	-	-	-	0,30	0,03
PLS1	150	20	0,02	1	-	-	0,30	0,03
PLS0.5	150	20	0,01	0,5	-	-	0,30	0,03
PLS0.2	150	20	0,005	0,25	-	-	0,30	0,03
PQ	150	20	-	-	0,24	0,024	0,30	0,03
PLSQ1	150	20	0,02	1	0,24	0,024	0,30	0,03
PLSQ0.5	150	20	0,01	0,5	0,24	0,024	0,30	0,03
PLSQ0.2	150	20	0,005	0,25	0,24	0,024	0,30	0,03

Grupos: **P**: P407; **PLS1**: P407+OELS 1%; **PLS0.5**: P407+OELS 0,5%; **PLS0.2**: P407+OELS 0,25%; **PQ**: P407+Q; **PLSQ1**: P407+Q+OELS 1%; **PLSQ0.5**: P407+Q+OELS 0,5%; **PLSQ0.2**: P407+Q+OELS 0,25%; (-) Não contém.

2.4 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A análise de FTIR foi utilizada com o objetivo de avaliar possíveis interações entre o poloxamer e a quitosana e comprovar a incorporação do OELS nos géis. Os espectros foram adquiridos em um Espectrômetro Spectrum 400 Perkin Elmer (Estados Unidos, Massachusetts) acoplado com acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) equipado com cristal de Bromo-iodeto de tálio (KRS-5) em um intervalo de 4000–400 cm^{-1} , 32 scans e com uma resolução de 4 cm^{-1} . Antes da coleta dos espectros as amostras foram submetidas secas por 24 horas a 40 °C de modo remover a água presente nos géis e, conseqüentemente, eliminar a interferência de bandas de água nos espectros de infravermelho.

2.5 Análise do tamanho, índice de polidispersão e potencial zeta

As análises do tamanho e índice de polidispersão dos géis foram obtidas pelo método de espalhamento de luz dinâmico (Dynamic Light Scattering – DLS), e o potencial zeta (PZ), pela técnica de mobilidade eletroforética associada à equação de Henry por meio do equipamento Zetasizer® nano ZS90 (Malvern instrumentos, São Paulo, Brasil), equipado com um raio laser de 633 nm, com espalhamento óptico fixo a 90° a 25°C. Amostras foram diluídas utilizando água ultrapura (DLS) e em solução de cloreto de sódio a 1 mM (PZ) em cubeta

descartável. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão.

2.6 Avaliação das propriedades de transição Sol-Gel

A determinação da temperatura e do tempo de transição sol-gel (Tsol-gel) foram realizados através do método de inclinação tubo de ensaio, no qual houve a inserção de 2 mL do gel (em fase de solução), mantido em banho de água. Para a determinação da temperatura (Tsol-gel), a temperatura do banho de água foi aumentada lentamente, a cada 2 °C e foi determinada no momento em que a solução no tubo de vidro parou de fluir quando submetida a inversão. Já para o tempo (Tsol-gel) a temperatura da água do banho foi mantida à 37 °C. A cada 5 segundos o tubo de ensaio foi retirado e inclinado para a observação do estado da amostra. O tempo necessário para gelificação foi determinado pela ausência de fluidez da solução presente no tubo [38].

2.7 Avaliação do comportamento reológico

Testes relógios são realizados com o intuito de prever os comportamentos viscoelástico e de fluxo dos materiais quando submetidos a esforços mecânicos, no caso de géis poliméricos destinados à área médica, é imprescindível que apresentem propriedades adequadas à mucosa a que se destinam [39]. Partindo desse princípio, foram realizadas varreduras de temperatura de 26 a 40 °C, à frequência constante de 1 Hz, de modo a verificar o estado de gelificação na transição de temperatura ambiente-corporal, e uma varredura de frequência oscilatória de 0,1 a 10 Hz, avaliando a viscosidade aparente das amostras. Os testes foram realizados em um reômetro HAAKE™ MARS™ (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts), equipado com rotor PP35Til com geometria placa-placa.

2.8 Estudo de estabilidade

Inicialmente as amostras foram submetidas ao teste de centrifugação (Modelo 80-2b - MYLABOR) a 3000rpm durante 30 minutos. Cada gel (2mL) à temperatura ambiente, foi disposta em tubos Falcon e submetida à centrifugação. A finalidade do teste é promover um estresse à formulação, simulando um aumento na força de gravidade, aumentando a agitação das partículas. Após o teste, o

produto deve permanecer estável, e qualquer indício de instabilidade o produto deve ser reformulado antes de prosseguir para os próximos testes [40].

Após a centrifugação, as formulações foram submetidas a estudos de estabilidade em diferentes condições de armazenamento, geladeira (5 ± 2 °C), temperatura ambiente (T.A) (25 ± 2 °C) e estufa (45 ± 2 °C) por 30 dias em embalagens plásticas seladas. A estabilidade físico-química dos géis foi observada pelo pH, cor, separação de fases e odor nos tempos 7, 15, 30 dias.

2.9 Ensaios microbiológicos

2.9.1 Microrganismos

Os microrganismos testados foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 15656), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Candida albicans* (ATCC 76485). As cepas bacterianas foram cultivadas em Brain Heart Infusion (BHI- Sigma, St. Louis, Missouri, USA) e a cepa fúngica foi preparada em caldo Sabouraud Dextrose (CSD) (KASVI1, Kasv Imp e Dist de Prod / Laboratorios LTDA, Curitiba, Brasil) e foram incubadas sob condições aeróbicas em estufa microbiológica a 35 °C (fungos) e a 37 °C (bactérias) por 24 horas. Os inóculos foram padronizados para 0,5 na Escala de Mcfarland.

2.9.2 Concentração inibitória mínima (CIM) do OELS

A técnica de microdiluição contra cepas bacterianas foi realizada segundo a Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2012 [41] com modificações, e a técnica de microdiluição realizada com a cepa fúngica foi realizada segundo a CLSI 2008 com modificações [42]. O OELS foi solubilizado em Tween 80 5% (Sigma, St. Louis, Missouri, EUA) e diluído com BHI ou em CSD para atingir concentrações que variam de 2.048 a 16µg/mL. Solução salina 0,9% e Tween 80 5% foram usados como controles negativos, enquanto que clorexidina 0,12% (Sigma, São Paulo, São Paulo, Brasil) e Nistatina (48µg/mL) (Sigma-Aldrich, São Paulo, SP) foram usados como controles positivos. As placas foram incubadas em uma estufa microbiológica por 24 horas a 35 - 37 °C. Os testes foram realizados em triplicatas.

Após este período, as CIMs do OELS contra cepas bacterianas foram determinadas visualmente através da oxidação-redução do indicador resazurina (0,1%) (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil). O resultado da CIM do OELS contra a

cepa fúngica foi lida a partir da observação de agregados celulares no fundo dos poços [43]. A menor concentração de OELS em que não houve crescimento visível microbiano foi registrado como a CIM.

2.9.3 Concentração inibitória mínima (CIM) dos géis *in situ*

A atividade antimicrobiana dos géis *in situ* foi obtida pela técnica de microdiluição, realizada semelhante à técnica descrita acima. As concentrações do OELS presentes nas formulações com P407 e com PL704+Q variaram de 20 a 2,25 µg/mL do OELS. Para este teste especificamente, foram confeccionados géis com 5% de P407, a fim de não geleificar o meio (BHI ou CSD) na temperatura de incubação (35 – 37°C), de forma que outros componentes mantiveram suas concentrações. Os grupos P, PQ e Solução salina 0,9% foram usados como controles negativos, enquanto que clorexidina 0,12% e nistatina (48µg/mL) foram usados como controles positivos. As placas foram incubadas em uma estufa microbiológica por 24 horas a 35 - 37 °C. Os testes foram realizados em triplicatas. A menor concentração de OELS em que não houve crescimento microbiano visível foi registrado como a CIM.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do Óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (OELS)

O OELS obtido apresentou densidade de 0,9432 g.mL e pH 5,27. A análise cromatográfica do OELS extraído das partes aéreas da planta através do espectro de CG-EM resultou na identificação dos fitoconstituíntes listados na Tabela 3. O componente majoritário detectado foi o timol (57,85%), seguido do p-cimeno (13,73%), E-cariofileno (6,03%), γ-terpineno (3,36%), Eucaliptol (2,26%), β-mirceno (1,87%) e α-Tujeno (1,67%). Outros compostos também foram detectados, porém em percentuais inferiores.

Majoritariamente são encontrados os compostos fenólicos timol e carvacrol, sendo suas quantidades variáveis de acordo com fatores naturais. Nesta análise, o predomínio foi de compostos monoterpênicos. O timol como composto majoritário

já era esperado, dado que, resultados de estudos anteriores apontaram o timol como componente majoritário do OELS originário do Nordeste brasileiro [30,44,45].

Tabela 3. Composição química do óleo essencial de *L. sidoides* Cham. Componentes listados em ordem de eluição.

Componente	Tempo de retenção (minutos)	Concentração (%)
α-Tujeno	6,188	1,67
α -Pineno	6,320	0,76
β-Mirceno	7,214	1,87
Terpinoleno	7,678	1,51
<i>p</i>-Cimeno	7,808	13,73
<i>D</i> -Limoneno	7,881	0,79
Eucaliptol	7,938	2,26
β -Ocimeno	8,149	0,61
γ-Terpineno	8,364	3,36
β -Linalol	8,981	0,18
Ipsidienol	9,707	0,49
Terpinen-4-ol	10,270	0,48
Timol metil éter	11,054	0,55
Timol	11,873	57,85
Carvacrol	12,023	0,07
<i>E</i>-Cariofileno	13,768	6,03
<i>Cis</i> -alfa-Bergamoteno	13,871	0,35
Aromadendreno	14,022	0,74
α -Humuleno	14,210	0,35
Óxido de Cariofileno	15,853	0,19

3.2 Concentração inibitória mínima (CIM) do OELS

Os resultados das análises de atividade antimicrobiana do OELS obtidos pelo método de microdiluição demonstraram ser favoráveis ao inibir o crescimento das cepas estudadas. Para a bactéria *E. coli* o valor encontrado para a CIM foi de

256 µg/mL. Os valores de CIM demonstraram uma maior efetividade para a bactéria gram-positiva *S. aureus* (128 µg/mL) e para a cepa fúngica *C. albicans* (128 µg/mL). Os valores de CIM para os controles foram <0,0053 µg/mL para clorexidina e 3µg/mL para nistatina.

Embasando-se na metodologia proposta por Sartoratto *et al.* (2004) [46], na qual os autores sugeriram uma classificação com o intuito de verificar o potencial antimicrobiano dos OEs, foi então determinada a bioatividade dos compostos a partir dos valores da CIM e classificada de acordo com as seguintes categorias: bioatividade forte (CIM de até 500 µg/mL); bioatividade moderada (CIM de 600 a 1500 µg/mL); bioatividade fraca (CIM acima de 1500 µg/mL). Diante disso, o OEELS apresentou bioatividade forte frente aos microorganismos testados.

Apesar da atividade antimicrobiana dos OEs ser atribuída apenas a determinados compostos específicos, como por exemplo carvacrol, timol e naringenina, alguns desses compostos isolados apresentam atividade fraca e espectro de ação limitado quando comparado aos OEs. Indicando haver sinergismo de ação quando todos esses compostos agem juntos [47,48].

Estudos apontam que os OEs inibem o crescimento microbiano afetando a bicamada fosfolipídica e o mecanismo enzimático de produção e metabolismo de energia, danificando a estrutura e a função da membrana celular bacteriana. Dessa forma, a natureza hidrofóbica e a composição química dos OEs diminuem o risco de resistência microbiana, dado a diversidade de mecanismos de ação que abrangem uma combinação de compostos [28,29].

Os resultados de CIMs do presente estudo corroboram com os valores de Veras *et al.* (2017) [33]. Nesse estudo, o OEELS foi extraído no Nordeste brasileiro e em sua análise cromatográfica os principais constituintes detectados foram timol (84,9%), etil-metil-carvacrol (5,33%) e p-cimeno (3,01%). Os valores encontrados para CIM foram: 128 µg/mL para *S. aureus* e 512 µg/mL para *E. coli*. Também sendo possível observar maior sensibilidade de bactéria gram-positiva (*S. aureus*) em comparação com bactéria gram-negativa como *E. coli*.

O mecanismo de ação dos óleos essenciais sobre bactérias Gram-positivas e fungos parece ocorrer de forma semelhante. Brito *et al.* (2015) [34] avaliaram o

potencial antifúngico do OELS através da técnica de microdiluição e observaram CIM que variaram entre 64 e 256 µg/mL frente a cepas de *Candida*. Vale destacar que o óleo essencial também foi originário do Nordeste brasileiro e obteve o timol como componente majoritário.

Uma maior sensibilidade de organismos gram-positivos pode ser explicada pelo fato que as bactérias Gram-positivas têm uma única camada espessa de peptidoglicano em sua membrana, já as bactérias Gram-negativas têm uma membrana mais externa, atuando como uma maior barreira molecular [49].

3.3 Análise dos géis *in situ*

Os géis P e PQ apresentaram-se com aspecto viscoso, inodoro, translúcido e com estrutura homogênea à temperatura ambiente. As formulações PLS1, PLS0.5, PLS0.2, PLSQ1, PLSQ0.5, PLSQ0.2 se apresentaram com aspecto viscoso, odor característico (atribuído ao OELS), estrutura homogênea a temperatura ambiente e cor levemente amarelada, no entanto o grupo PLS1 apresentou a cor amarelada mais forte (atribuída a maior concentração do OELS). O aspecto inicial das formulações pode ser observado na figura 1. O pH das formulações sem quitosana variaram entre 6,7 – 6,9, já as formulações contendo quitosana variaram o pH entre 5,7 – 5,8.

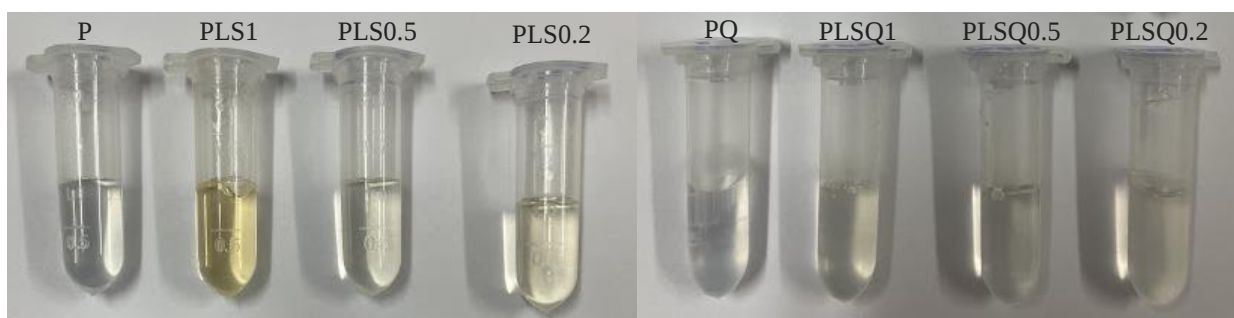


Figura 1. Aspecto inicial dos géis *in situ*.

3.4 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Na Figura 2 estão presentes os espectros de infravermelho dos géis de poloxamer carregados com óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham.

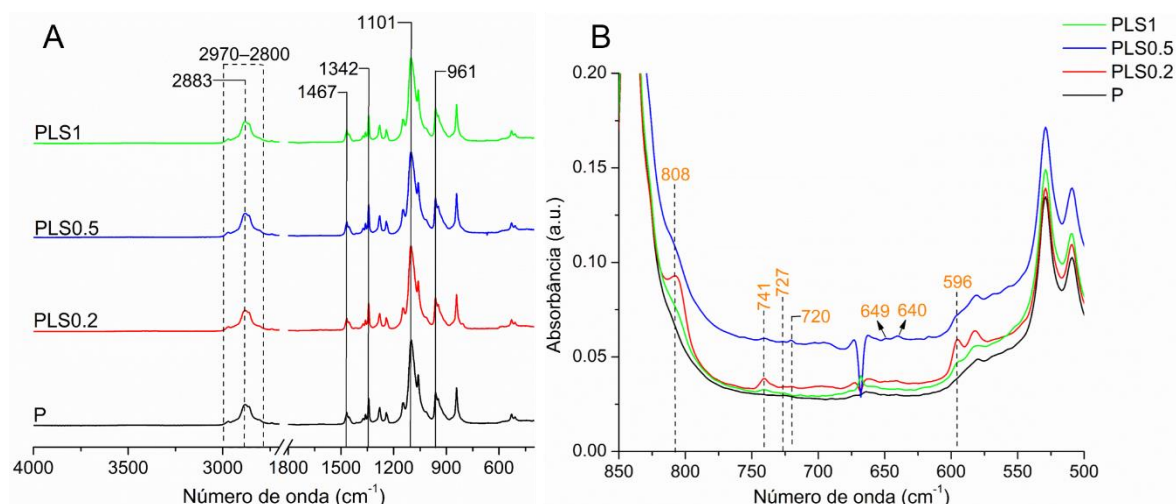


Figura 2. (A) Espectros de infravermelho do gel de poloxamer puro e carregado com diferentes concentrações do OELS. (B) Recorte do espectro de infravermelho dos géis no intervalo de 850–500 cm^{-1} .

De acordo com a Figura 2 os géis de poloxamer, P407, PLS1, PLS0.2 e PLS0.5 apresentaram um perfil espectral semelhante com algumas diferenças. Todas as amostras apresentaram bandas de vibração características do poloxamer: bandas de vibração localizadas entre 2980–2880 cm^{-1} são referentes as vibrações simétricas e assimétricas de $-\text{CH}_3$ e $-\text{CH}_2$ [50,51]; a banda de vibração de 2880 cm^{-1} corresponde a vibração de estiramento do grupo $-\text{CH}_2$ [52]. As vibrações em 1467 e 1101 cm^{-1} estão associadas as ligações $\text{C}-\text{O}-$ pertencentes ao grupo éter [53] e a vibração em 961 cm^{-1} pertence a ligação $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ [54]; vibrações de estiramento de $\text{C}-\text{H}$ de alcanos são observadas em 1342 cm^{-1} [51]. Todas estas bandas são características da estrutura molecular do poloxamer, o qual é um copolímero composto por uma cadeia hidrofóbica central de polioxipropileno (poli(óxido de propileno)) flanqueada por duas cadeias hidrofílicas de polioxietileno (poli(óxido de etileno)) e possui em sua estrutura molecular ligações de $\text{C}-\text{CH}_3$, $\text{C}-\text{H}$, $\text{C}-\text{O}$ e $\text{C}-\text{OH}$ [51].

Ademais, também foi observado nos espectros das amostras PLS1, PLS0.2 e PLS0.5 o aparecimento de novas bandas de vibração (Figura 2). A banda de vibração localizada em 808 cm^{-1} é atribuída às vibrações de torção da ligação $\text{C}-\text{H}$ ($\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{H}$); a vibração em 741 cm^{-1} está relacionada a combinação das vibrações de alongamento de $\text{C}-\text{C}$ e dobramento de $\text{C}-\text{C}-\text{C}$, ambas presentes em anéis aromáticos [55]; vibrações localizadas em 727 e 596 cm^{-1} estão relacionadas a ligação $\text{C}-\text{C}-$ em seu modo de torção [56]. As bandas de vibração em 720, 649 e 640 cm^{-1} são características das vibrações dos demais compostos presentes no

OELS [35,56]. Logo, foram observadas novas bandas de vibração após a incorporação do OELS nos géis de poloxamer, o que comprova a sua incorporação dos mesmos.

Após o carregamento do óleo essencial na matriz do poloxamer, novas amostras dos géis foram preparadas. Nestas amostras foi adicionada a quitosana de modo a tornar os géis mucoadesivos. Logo, de modo a identificar a incorporação do óleo essencial nos géis de poloxamer/quitosana e avaliar possíveis interações entre a quitosana e o poloxamer, novas análises de FTIR foram conduzidas e seus resultados podem ser observados na Figura 3.

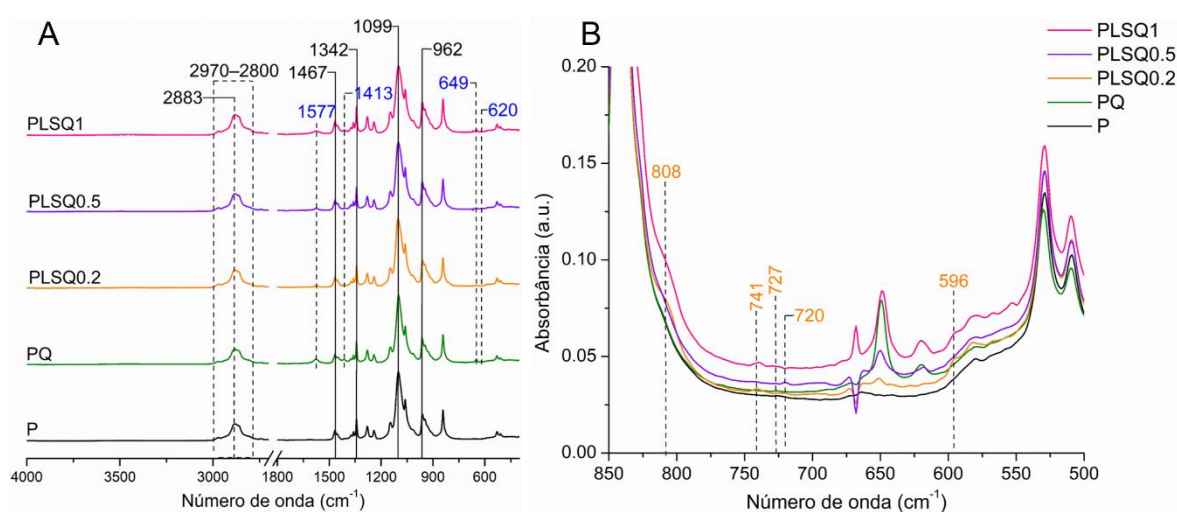


Figura 3. (A) Espectros de infravermelho do gel de poloxamer/quitosana puro e carregado com diferentes concentrações do OELS. (B) Recorte do espectro de infravermelho dos géis no intervalo de 850–500 cm^{-1} .

Os espectros dos géis PQ, PLSQ1, PLSQ0.2 e PLSQ0.5 (Figura 3) apresentaram todas as bandas características do poloxamer. Comparando o espectro do P407 e PQ é notado o aparecimento das bandas de 1577, 1413, 649 e 620 cm^{-1} todas estas associadas a adição da quitosana nos géis. A banda de 1577 cm^{-1} corresponde a vibração da amida II da quitosana. Esta sofreu um leve deslocamento de 1590 para 1577 cm^{-1} , o que indica interações do grupo amida da quitosana com a ligação O–H presente no poloxamer conforme descrito em outros estudos [57]. Com relação a vibração em 1413 cm^{-1} a mesma é referente a deformação simétrica de $-\text{CH}_3$ da quitosana [58]. Ademais, as bandas de vibração de 649 e 620 cm^{-1} correspondem as vibrações de dobramento de C–H em anéis aromáticos [59]. Por fim, as bandas de vibração de 808, 741, 727, 720 e 596 cm^{-1} estão associadas ao óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. comprovando sua

incorporação no gel de poloxamer/quitosana [35,56]. Logo, os resultados de infravermelho indicaram interações entre a quitosana e o poloxamer bem como confirmaram a incorporação do OELS na matriz polimérica.

3.5 Análise do tamanho, índice de polidispersão e potencial zeta

O tamanho médio das partículas de cada formulação de gel fora determinado pelo método de dispersão de luz dinâmica (DLS) e estão expressos na tabela 4.

Tabela 4. Resultado de análise no DLS dos grupos testados em relação ao D, PDI e PZ.

	D (d.nm)	Pico1 / intensidade	Pico2 / intensidade	Pico3 / intensidade	PDI	PZ
P	123,7	67,26±39,02/ 37,7%	294,9±123,3/ 32,2%	7,966±2,87/ 30,1%	0,302	-6,18
PLS1	151,6	23,71±7,654/ 53,8%	254,5±62,29/ 37,8%	7,288±1,56/ 8,4%	0,251	-5,44
PLS0.5	157,2	211,0±65,17/ 65,9%	6,907±1,452/ 20,9%	35,77±8,68/ 12,2%	0,356	-9,80
PLS0.2	104,9	322,1±115,5/ 33,5%	53,87±21,85/ 31,9%	8,504±2,97/ 31,7%	0,272	-10,2
MÉDIA±DP	134,35±24,49	-	-	-	0,29±0,04	-7,90±2,44
PQ	436,1	687,5±170,0/ 65,5%	136,8±31,66/ 25,5%	8,779±2,53/ 9,0%	0,689	+7,74
PLSQ1	324,9	304,0±68,04/ 57,2%	46,10±12,37/ 30,3%	8,232±2,59/ 12,5%	0,453	+4,68
PLSQ0.5	470,5	367,5±50,10/ 72,5%	19,94±2,38/ 27,5%	-	0,578	+5,95
PLSQ0.2	485,1	489,8±103,4/ 61,1%	118,1±21,88/ 20,2%	8,035±2,72/ 18,7%	0,593	+5,61
MÉDIA±DP	429,15±72,47	-	-	-	0,57±0,09	+5,99±1,28

D: Diâmetro médio das partículas; **PDI:** Índice de Polidispersão; **PZ:** Potencial Zeta; (-) Não contém.

O tamanho médio das partículas e os valores de PDI das microcápsulas dos grupos formulados sem Quitosana (P, PLS1, PLS0.5, PLS0.2) (134,35±24,49nm; PDI 0,295±0,045) apresentaram-se menor quando comparados com os grupos

formulados contendo Quitosana (PQ, PLSQ1, PLSQ0.5, PLSQ0.2) ($429,15 \pm 72,47 \text{ nm}$; $\text{PDI } 0,57 \pm 0,09$).

O aumento no tamanho médio das partículas e no PDI pode acontecer devido à quitosana ser um polímero com cadeias longas e de maior peso molecular. Além disso, o TPP pode formar ligações cruzadas e promover a formação de partículas maiores e agregados de partículas nas soluções com quitosana, colaborando para redução da homogeneidade das formulações [60,61].

Em relação ao PZ, avaliado através da mobilidade eletroforética associada à equação de Henry, os grupos sem a presença da quitosana na composição apresentaram valores de PZ negativos ($-7,905 \pm 2,44$), por sua vez, os géis com Quitosana na composição apresentaram valores de PZ positivos ($+5,995 \pm 1,288$), como pode ser observado na tabela 4.

A mudança no PZ é devida a natureza policatiónica da quitosana. As propriedades mucoadesivas da quitosana baseiam-se principalmente na interação entre a carga positiva da quitosana e a negativa do ácido siálico da mucina, e como consequência ocorre o prolongamento no tempo permanência do fármaco na mucosa [62].

3.6 Avaliação das propriedades de transição Sol-Gel

As temperaturas e os tempos de gelificação das formulações estão expostos na Tabela 5.

Tabela 5. Resultado da avaliação da Temperatura (Tsol-gel) e do Tempo (Tsol-gel) a 37 °C.

	Temperatura (Tsol-gel) (°C)	Tempo (Tsol-gel) 37 °C (s)
P	28 ± 1	39.31 ± 6.53
PLS1	20 ± 1	23.32 ± 3.63
PLS0.5	24 ± 1	26.52 ± 5.05
PLS0.2	26 ± 1	43.13 ± 3.72
PQ	28 ± 1	46.46 ± 8.89
PLSQ1	20 ± 1	18.76 ± 1.24
PLSQ0.5	24 ± 1	27.48 ± 7.97
PLSQ0.2	26 ± 1	38.62 ± 8.64

s: segundos.

Em geral, os géis *in situ* devem apresentar T_{sol-gel} próximo a temperatura corporal (37 °C) em um tempo T_{sol-gel} curto e permanecer em forma de solução quando armazenados à temperatura ambiente (25 °C) [63]. As formulações deste estudo apresentaram as temperaturas (T_{sol-gel}) entre 20 ± 1 °C a 28 ± 1 °C, com tempos (T_{sol-gel}) a 37° variando entre 18.76 ± 1.24s a 46.46 ± 8.89s.

Usualmente soluções com concentração de P407 entre 15-30% (p/v), são líquidas de fluxo livre a 25 °C (temperatura ambiente) e são rapidamente convertidas em estado de gel a 37 °C, soluções mais concentradas formam géis rígidos a 25 °C [21]. Neste estudo foram confeccionados géis com 20% em peso de P407. Os géis compostos por P407 e P407+Q (P e PQ) apresentaram a transição de fase a 28 °C. Pode-se observar que a Temperatura (T_{sol-gel}) diminuiu com o aumento da concentração do OELS. Panomsuk *et al.* (2020) [64] também observaram a diminuição da Temperatura (T_{sol-gel}) com o aumento da concentração do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* em um gel de P407 (20%).

De igual modo, os grupos com 1% e 0,5% OELS apresentaram menor Tempo (T_{sol-gel}) a 37 °C. Os aspectos do gel *in situ* em solução e após gelificação podem ser observados na Figura 4.

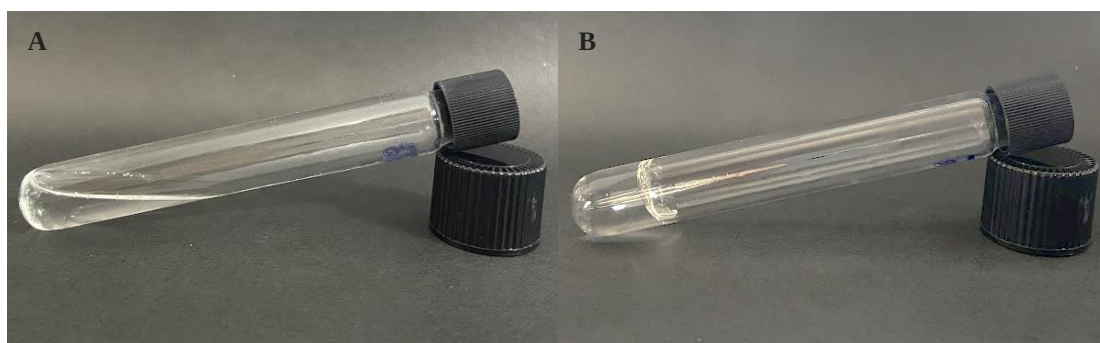


Figura 4. (A) Gel *in situ* em fase de solução. (B) Gel *in situ* após gelificação.

3.7 Avaliação do comportamento reológico

A figura 5 apresenta o gráfico de viscosidade em função da frequência oscilatória dos géis poliméricos.

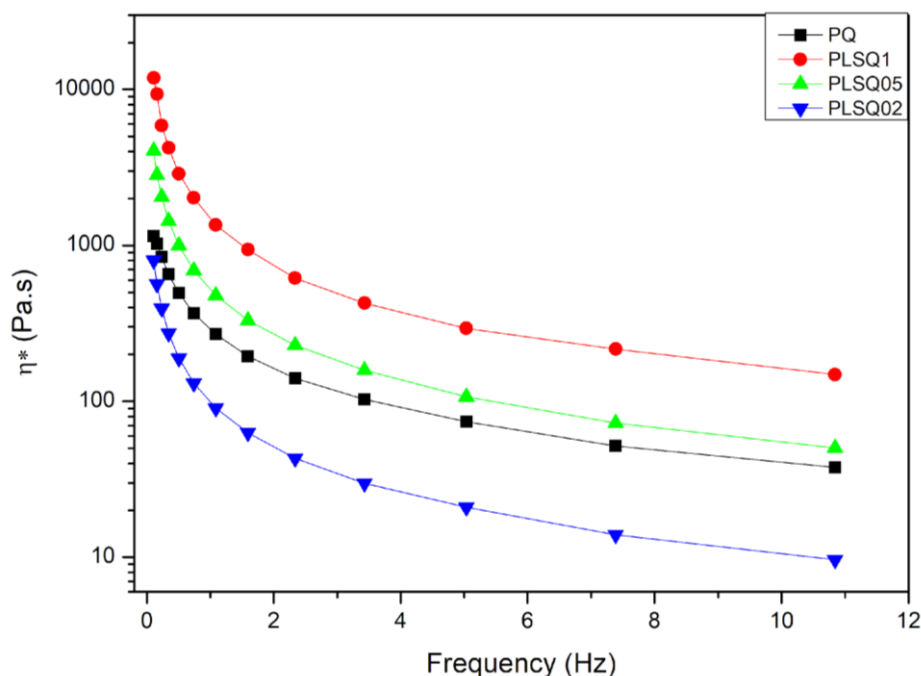


Figura 5. Viscosidade aparente em função da frequência oscilatória dos géis formados por Poloxamer, Quitosana e OELS em diferentes proporções.

De acordo com as curvas de viscosidade, foi possível notar que todas as amostras possuem comportamento típico de um gel pseudoplástico, ou seja, possuem viscosidade alta em baixas frequências, seguida de uma queda brusca à medida que o esforço oscilatório aumenta, e por fim, há uma tendência à estabilidade (o segundo platô Newtoniano), consequência da orientação das moléculas poliméricas no sentido do esforço [65]. Tal comportamento é benéfico para aplicações médicas, visto que o esforço exercido durante a administração clínica reduziria a viscosidade do gel facilitando seu espalhamento sobre a superfície desejada [66].

Além disso, a amostra PLSQ02, que contém a menor concentração de óleo essencial, apresentou viscosidade menor que a amostra controle (PQ) sem o composto, diferente das demais (PLSQ05 e PLSQ1) cuja viscosidade aumenta, o que sugere que o óleo a baixas concentrações atua como plastificante externo para as cadeias poliméricas, facilitando o fluxo e consequentemente diminuindo sua viscosidade, quando a quantidade é maior, no entanto, esse efeito se inverte e o

óleo tem maior probabilidade de interferir na matriz do gel dificultando sua organização e fluxo [67].

Na figura 6 está disposto o gráfico referente à $\tan\delta$, relação entre os módulos de perda plástica e armazenamento elástico, em função da temperatura e à frequência constante.

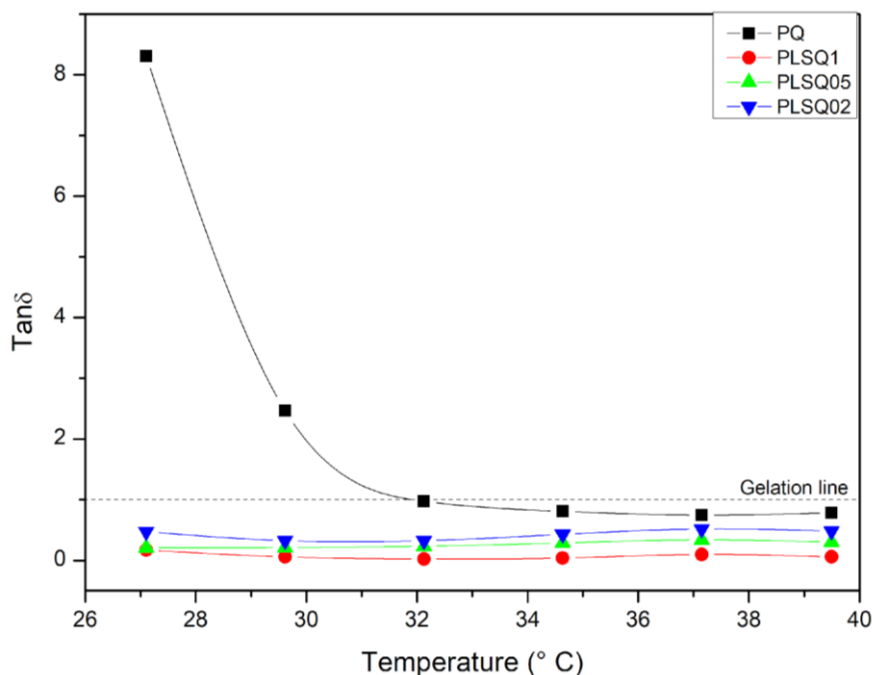


Figura 6. Tangente de perda ($\tan\delta$) em função da temperatura.

O $\tan\delta$ apresentado pelas amostras contendo OELS é menor que 1 em toda a faixa de temperatura analisada, ou seja, tendem ao comportamento de sólido (não escoam) e não passam por transição sol-gel nessa faixa de temperatura, demonstrando estabilidade térmica e manutenção da estrutura de gel, já a amostra PQ, apresenta a transição sol-gel em torno de 32 °C, gelificando neste ponto. Soluções aquosas de Poloxamer geralmente apresentam transição sol-gel em torno de 37 °C, porém essa temperatura pode ser alterada devido a presença de outros polímeros ou substâncias na matriz, nesse caso a presença da quitosana reduziu a sua temperatura de transição, e combinada com o óleo essencial a mudança de comportamento ocorre fora da faixa analisada, em temperaturas menores, casos semelhantes com já foram reportados na literatura [68,69].

3.8 *Estudo de estabilidade*

O teste de centrifugação foi realizado como análise preliminar, com o objetivo de detectar características de instabilidade das formulações, como por exemplo a separação dos componentes em fases. Após o teste não foram observadas alterações visuais no aspecto original dos géis avaliados. Os mesmos apresentaram-se estáveis quando submetidos à situação de estresse e adequados para os demais testes de estabilidade.

Após 7, 15 e 30 dias em diferentes condições de armazenamento, temperatura ambiente (T.A) (25 ± 2 °C), geladeira (5 ± 2 °C) e estufa (45 ± 2 °C), os géis foram avaliados novamente quanto ao pH, cor, separação de fases e odor.

Alterações nos valores de pH podem indicar um comprometimento da integridade, assim como podem afetar a eficácia da formulação. Os gráficos apresentados nas Figuras 7, 8 e 9 expressam a variação de pH nos períodos avaliados nas respectivas condições de armazenamento.

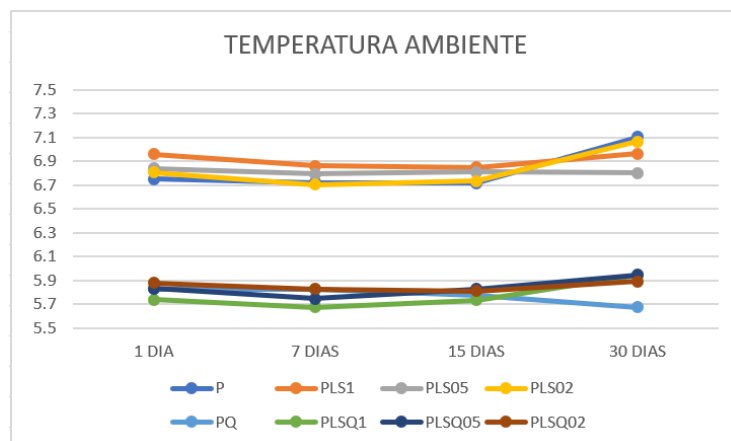


Figura 7. Valores de pH das formulações armazenadas em temperatura ambiente (T.A) durante 30 dias.

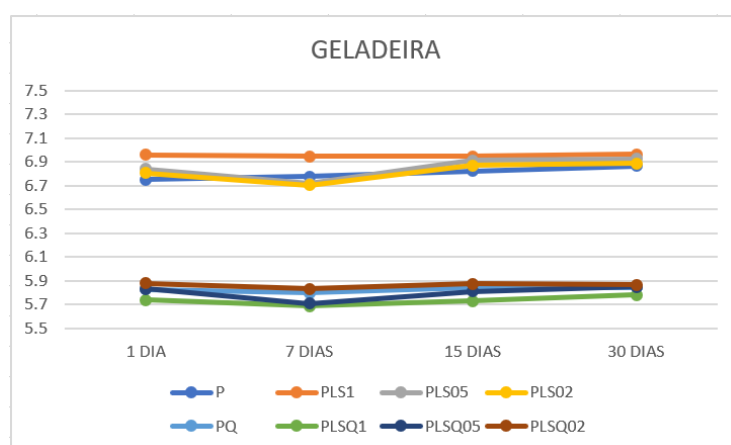


Figura 8. Valores de pH das formulações armazenadas em geladeira durante 30 dias.

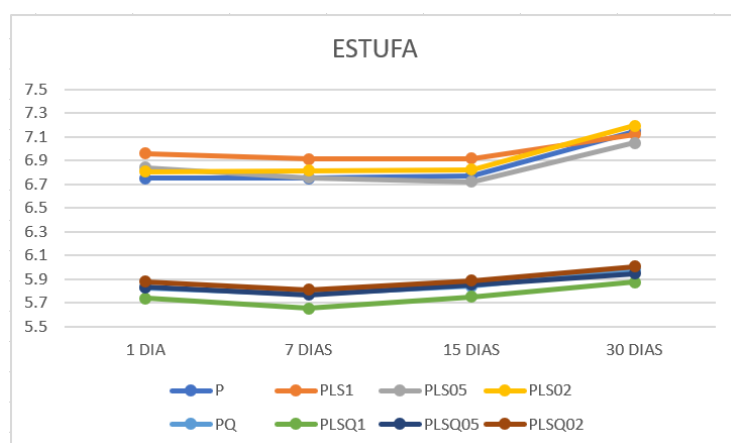


Figura 9. Valores de pH das formulações armazenadas em estufa durante 30 dias.

Os valores de pH inicial e após 30 dias estão expressos na Tabela 6.

Tabela 6. Avaliação do pH inicial e após 30 dias de armazenamento em temperatura ambiente (T.A), geladeira e estufa.

	pH $\pm$ DP inicial	pH após 30 dias		
		T.A	GELADEIRA	ESTUFA
P	6.75 $\pm$ 0,03	7,11 (5.23)	6.87 (1.68)	7.15 (5.86)
PLS1	6.96 $\pm$ 0,03	6,97 (0,10)	6.96 (0,05)	7.12 (2.35)
PLS0.5	6.84 $\pm$ 0,01	6.80 (-0.54)	6.93 (1.27)	7.05 (3.07)
PLS0.2	6.8 $\pm$ 0,01	7,07 (3.82)	6.89 (1.22)	7.2 (5.73)
PQ	5.82 $\pm$ 0,03	5.67 (-2.63)	5.85 (0.34)	5.98 (2.69)
PLSQ1	5.74 $\pm$ 0,01	5.64 (3.54)	5.78 (0.75)	5.88 (2.38)
PLSQ0.5	5.83 $\pm$ 0,02	5.95 (1.94)	5.85 (0.29)	5.95 (1.94)
PLSQ0.2	5.88 $\pm$ 0,01	5.89 (0.23)	5.87 (-0.23)	6.01 (2.15)

*% de diferença ao pH inicial

Nota-se que as alterações nos valores de pH das formulações no período de 30 dias foram menores que 6% em todas as formas de armazenamento. Segundo o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) [39], variações de valores de pH acima de 10% são consideradas inapropriadas, e caracteriza-se como um critério para exclusão de formulações. Assim, todas as variações de pH encontradas nas formulações, no período de 30 dias, estão dentro dos valores preconizados como adequados.

Os géis apresentaram-se estáveis, não sendo observado separação de fases e mudanças no odor. Os géis dos grupos PSL1, PSL0.5 e PSL0.2 armazenados em estufa (45 ± 2 °C) apresentaram escurecimento na coloração, como pode ser observado na figura 10B. Os géis de P407+Q carregados com OELS (PSLQ1, PSLQ0.5 e PSLQ0.2) não apresentaram modificações na cor, sugerindo que a Quitosana pode conferir melhor estabilidade às formulações.

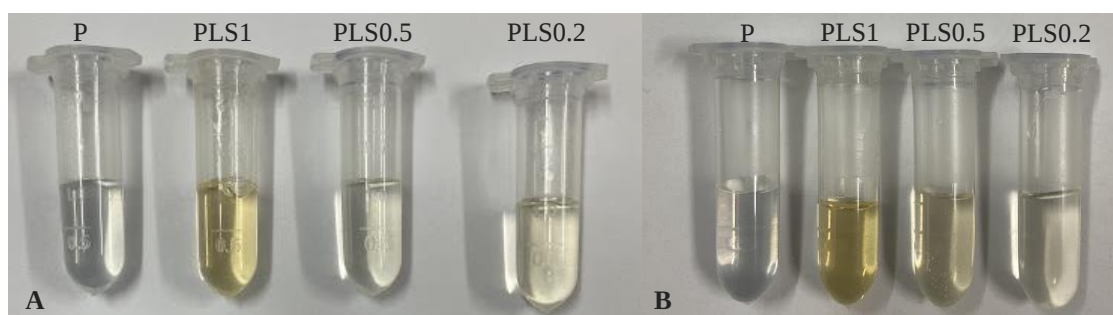


Figura 10. (A) Aspecto inicial dos géis *in situ*. (B) Aspecto dos géis *in situ* após 30 dias de armazenamento em estufa.

3.9 Concentração inibitória mínima (CIM) dos géis *in situ*

A atividade antimicrobiana dos géis foi avaliada pelo método de microdiluição, as concentrações do OELS variaram de 20 a 2,25 µg/mL do óleo. As formulações P e PQ, compostas apenas com os polímeros, não apresentaram atividade antimicrobiana. Os valores de CIM para os controles foram <0,0053 µg/mL para clorexidina e 3µg/mL para nistatina. Os géis de P407 e de P407+Q contendo OELS inibiram o crescimento microbiano frente às cepas avaliadas a partir da concentração de 5 µg/mL do OELS.

Balhim *et al.* [32] encapsularam em um nanossistema lipídico o OELS para atividade antifúngica. Foi encontrado atividade do OELS contra *C. albicans* na CIM de 156 µg/mL, já o nanossistema carregado com OELS apresentou CIM de 221 µg/mL. Efeito diferente do encontrado neste estudo, onde o encapsulamento do OELS proporcionou uma menor concentração do OELS para ação antimicrobiana.

Um outro estudo avaliou um gel contendo uma concentração semelhante à usada nesta pesquisa (OELS 0,5%) através de um modelo experimental de periodontite em camundongos [70]. Os resultados demonstram o potencial efeito protetor do gel contra a destruição do tecido periodontal e esse efeito foi

relacionado à atividade antiinflamatória e antimicrobiana do OELS contra as bactérias periodontais.

O gel *in situ* exibiu maior atividade antimicrobiana em comparação com o OELS livre, apresentando valores de CIM menores. Isso pode estar associado à liberação controlada do OELS promovido pelo sistema polimérico, atuando com uma melhor biodisponibilidade do OE no meio. Além disso, os melhores efeitos inibitórios podem ser justificados pelos possíveis motivos: a) o processo de microencapsulação do OELS tem o potencial para atuar como uma barreira funcional evitando reações físicas e químicas do mesmo; b) possibilita a manutenção das características originais do OELS por um período maior quando comparado com o OELS livre; e c) mantém constante por mais tempo as concentrações das substâncias antimicrobianas (voláteis) em relação a outros compostos presentes nos óleos essenciais [71-73].

Ainda são necessárias futuras investigações da atividade antimicrobiana frente a outras cepas e em modelos de biofilme, parâmetros de toxicidade e observar o perfil de liberação controlada do OELS. Bem como aprimorar o desenvolvimento do gel *in situ*, para melhorar as características de estabilidade e administração. No entanto, os resultados aqui expostos são promissores e justificam a relevância de pesquisas visando o desenvolvimento de formulações inovadoras carregadas com OEs isoladamente ou em associação com drogas como ferramenta no tratamento de ISCs.

4. CONCLUSÃO

A encapsulação do OELS em um gel *in situ* de P407+Quitosana conferiu características de potencial mucoadesão e estabilidade, promoveu proteção aos constituintes voláteis do óleo essencial, e potencializou a atividade antimicrobiana do OELS contra *S. aureus*, *E. coli*, e *C. albicans*. Os géis *in situ*, por se apresentarem em solução a temperaturas amenas (<20°C), podem ser aplicados topicamente em spray para formarem uma película de gel mucoadesiva em temperatura corporal. Essa forma de aplicação pode oferecer vantagens, como facilidade de aplicação, podendo alcançar áreas de difícil acesso na cavidade bucal, realizar a liberação localizada e controlada do OELS, resistir por um maior

tempo aderido à mucosa e fornecer uma camada protetora de atritos, reduzindo a dor e o desconforto causados por lesões cirúrgicas.

Contribuições dos autores: **Dantas MVO:** Conceitualização, Metodologia e Redação; **Bonan PRF:** Metodologia, Revisão e Supervisão; **Sampaio FC:** Metodologia, Revisão e Supervisão. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Conflitos de interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Amora-Silva BF, Ribeiro SC, Vieira CL, Mendes FR, Vieira-Neto AE, Abdon APV, *et al.* Clinical efficacy of new α -bisabolol mouthwashes in postoperative complications of maxillofacial surgeries: a randomized, controlled, triple-blind clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2019;23(2):577-584. doi: 10.1007/s00784-018-2464-4.
2. Bartella AK, Lemmen S, Burnic A, Kloss-Brandstätter A, Kamal M, Breisach T, *et al.* Influence of a strictly perioperative antibiotic prophylaxis vs a prolonged postoperative prophylaxis on surgical site infections in maxillofacial surgery. *Infection.* 2018;46(2):225-230. doi: 10.1007/s15010-017-1110-4.
3. Chye RML, Perrotti V, Piattelli A, Iaculli F, Quaranta A. Effectiveness of Different Commercial Chlorhexidine-Based Mouthwashes After Periodontal and Implant Surgery. *Implant Dent.* 2019;28(1):74-85. doi:10.1097/id.0000000000000854.
4. Cosola S, Giammarinaro E, Marconcini S, Lelli M, Lorenzi C, Genovesi AM. Prevention of bacterial colonization on suture threads after oral surgery: comparison between propolis-and chlorhexidine-based formulae. *J Biol Regul Homeost Agent.* 2019;33:1275-81.
5. Karde P, Sethi K, Mahale S, Mamajiwala A, Kale A, Joshi C. Comparative evaluation of two antibacterial-coated resorbable sutures versus noncoated resorbable sutures in periodontal flap surgery: A clinico-microbiological study. *J Indian Soc Periodontol.* 2019;23(3):220. doi:10.4103/jisp.jisp_524_18.
6. Tummalapalli M, Anjum S, Kumari S, Gupta B. Antimicrobial surgical sutures: Recent developments and strategies. *Polymer Reviews,* 2016;56(4):607-630. doi: 10.1080/15583724.2015.1119163.

7. Seydibeyoğlu EA, Ayşe IŞIK. The Effect of Natural Antimicrobial Agents on the Characteristics of Surgical Sutures. Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi. 2020;22(64):11-20. doi: 10.21205/deufmd.2020226402.
8. Yazdankhah SP, Scheie AA, Høiby EA, Lunestad BT, Heir E, Fotland TØ, *et al.* Triclosan and Antimicrobial Resistance in Bacteria: An Overview. Microb Drug Resist. 2006;12(2):83-90. doi:10.1089/mdr.2006.12.83.
9. Syukri DM, Nwabor OF, Singh S, Ontong JC, Wunnoo S, Paosen S, *et al.* Antibacterial-coated silk surgical sutures by ex situ deposition of silver nanoparticles synthesized with Eucalyptus camaldulensis eradicates infections. J Microbiol Methods. 2020;174:105955. doi:10.1016/j.mimet.2020.105955.
10. Cooney CM. Personal care products: Triclosan Comes under Scrutiny. Environ Health Perspect. 2010;118(6). doi:10.1289/ehp.118-2898873.
11. Groppo FC, Ramacciato JC, Simões RP, Flório FM, Sartoratto A. Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil, and chlorhexidine against oral microorganisms. Int Dent J. 2002;52(6):433-437. doi:10.1111/j.1875-595x.2002.tb00638.x.
12. Faria RL, Cardoso LML, Akisue G, Pereira CA, Junqueira JC, Jorge AOC, *et al.* Antimicrobial activity of Calendula officinalis, Camellia sinensis and chlorhexidine against the adherence of microorganisms to sutures after extraction of unerupted third molars. J Appl Oral Sci. 2011;19(5):476-482. doi:10.1590/s1678-77572011000500007.
13. Hearnden V, Sankar V, Hull K, Juras DV, Greenberg M, Kerr AR, *et al.* New developments and opportunities in oral mucosal drug delivery for local and systemic disease. Advanced Drug Delivery Reviews. 2012;64(1):16-28. doi:10.1016/j.addr.2011.02.008.

14. Chaudhary B, Verma S. Preparation and Evaluation of Novel *In situ* Gels Containing Acyclovir for the Treatment of Oral Herpes Simplex Virus Infections. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:1-7. doi:10.1155/2014/280928.
15. Ranch KM, Maulvi FA, Koli AR, Desai DT, Parikh RK, Shah DO. Tailored Doxycycline Hyclate Loaded *In situ* Gel for the Treatment of Periodontitis: Optimization, In Vitro Characterization, and Antimicrobial Studies. *AAPS PharmSciTech*. 2021;22(3). doi:10.1208/s12249-021-01950-x.
16. Schmolka IR. Physical Basis for Poloxamer Interactions. *Ann N Y Acad Sci*. 1994;720(1):92-97. doi:10.1111/j.1749-6632.1994.tb30437.x.
17. Giuliano E, Paolino D, Fresta M, Cosco D. Mucosal Applications of Poloxamer 407-Based Hydrogels: An Overview. *Pharmaceutics*. 2018;10(3):159. doi:10.3390/pharmaceutics10030159.
18. Dumortier G, Grossiord JL, Agnely F, Chaumeil JC. A Review of Poloxamer 407 Pharmaceutical and Pharmacological Characteristics. *Pharm Res*. 2006;23(12):2709-2728. doi:10.1007/s11095-006-9104-4.
19. Ruel-Gariépy E, Leroux JC. *In situ*-forming hydrogels—review of temperature-sensitive systems. *Eur J Pharm Biopharm*. 2004;58(2):409-426. doi:10.1016/j.ejpb.2004.03.019.
20. Caramella CM, Rossi S, Ferrari F, Bonferoni MC, Sandri G. Mucoadhesive and thermogelling systems for vaginal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015;92:39-52. doi:10.1016/j.addr.2015.02.001.
21. Chen Y, Lee JH, Meng M, Cui N, Dai CY, Jia Q, *et al*. An Overview on Thermosensitive Oral Gel Based on Poloxamer 407. *Materials*. 2021;14(16):4522. doi:10.3390/ma14164522.

22. Bodratti A, Alexandridis P. Formulation of Poloxamers for Drug Delivery. *J Funct Biomater*. 2018;9(1):11. doi:10.3390/jfb9010011.
23. Mansuri S, Kesharwani P, Jain K, Tekade RK, Jain NK. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. *React Funct Polym*. 2016;100:151-172. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2016.01.011.
24. Gratieri T, Gelfuso GM, Rocha EM, Sarmiento VH, Freitas O, Lopez RFV. A poloxamer/chitosan *in situ* forming gel with prolonged retention time for ocular delivery. *Eur J Pharm Biopharm*. 2010;75(2):186-193. doi:10.1016/j.ejpb.2010.02.011.
25. Ur-Rehman T, Tavelin S, Gröbner G. Chitosan *in situ* gelation for improved drug loading and retention in poloxamer 407 gels. *Int J Pharm*. 2011;409(1-2):19-29. doi:10.1016/j.ijpharm.2011.02.017.
26. Bansal M, Mittal N, Yadav SK, Khan G, Gupta P, Mishra B, *et al*. Periodontal thermoresponsive, mucoadhesive dual antimicrobial loaded *in-situ* gel for the treatment of periodontal disease: Preparation, *in-vitro* characterization and antimicrobial study. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2018;8(2):126-133. doi:10.1016/j.jobcr.2017.12.005.
27. Coelho Junior É, Maciel PP, Muniz IAF, Silva HY, Sousa SA, Valença AM, *et al*. Poloxamer 407/chitosan micelles can improve α -Tocopherol effect on oral keratinocytes proliferation. *Journal of Materials Research*. 2021;36(7):1447-1455. doi:10.1557/s43578-021-00169-7.
28. Ni ZJ, Wang X, Shen Y, Thakur K, Han J, Zhang JG, *et al*. Recent updates on the chemistry, bioactivities, mode of action, and industrial applications of plant essential oils. *Trends Food Sci Technol*. 2021;110:78-89. doi:10.1016/j.tifs.2021.01.070.
29. Silva GC, Veras BO, Assis CRD, Navarro DMDAF, Diniz DLV, Santos, FAB, *et al*. Chemical composition, antimicrobial activity and synergistic

- effects with conventional antibiotics under clinical isolates by essential oil of *Hymenaea rubriflora* Ducke (FABACEAE). *Nat Prod Res*. 2021;35(22):4828-4832. doi : 10.1080/14786419.2020.1729150.
30. Morais SR, Oliveira TLS, Oliveira LP, Tresvenzol LMF, Conceição EC, Rezende MH, *et al*. Essential Oil Composition, Antimicrobial and Pharmacological Activities of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) From São Gonçalo do Abaeté, Minas Gerais, Brazil. *Pharmacogn mag*. 2016;12(48). doi:10.4103/0973-1296.192197.
31. Costa AS, Arrigoni-Blank MDF, Blank AF, Mendonça AB, Amancio VF, Ledo ADS. In vitro establishment of *Lippia sidoides* Cham. *Horticultura Brasileira*. 2007;25:68-72. doi: 10.1590/S0102-05362007000100013.
32. Baldim I, Tonani L, von Zeska Kress MR, Oliveira WP. *Lippia sidoides* essential oil encapsulated in lipid nanosystem as an anti-*Candida* agent. *Industrial Crops and Products*. 2019;127:73-81. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.10.064.
33. Veras HNH, Rodrigues FFG, Botelho MA, Menezes IRA, Coutinho HDM, Costa JGM. Enhancement of aminoglycosides and β -lactams antibiotic activity by essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the Thymol. *Arabian Journal of Chemistry*. 2017;10:S2790-S2795. doi:10.1016/j.arabjc.2013.10.030.
34. Brito DI, Morais-Braga MFB, Cunha FAB, Albuquerque RS, Carneiro JNP, Lima MSF, *et al*. Phytochemical analysis and antifungal activity of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and of the Thymol against *Candida* strains. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2015;17:836-844. doi:10.1590/1983-084x/14_060.
35. Fontenelle ROS, Morais SM, Brito EHS, Kerntopf MR, Brilhante RSN, Cordeiro RA, *et al*. Chemical composition, toxicological aspects and

- antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. J Antimicrob Chemother. 2007;59(5):934-40. doi: 10.1093/jac/dkm066.
36. Zanotto AW, Kanemaru MYS, Souza FG, Duarte MCT, Andrade CJ, Pastore GM. Enhanced antimicrobial and antioxidant capacity of *Thymus vulgaris*, *Lippia sidoides*, and *Cymbopogon citratus* emulsions when combined with mannosylerythritol a lipid biosurfactant. Food Research International. 2023;163:112213. doi: 10.1016/j.foodres.2022.112213.
 37. Baldim I, Rosa DM, Souza CR, Ana R, Durazzo A, Lucarini M, *et al.* Factors affecting the retention efficiency and physicochemical properties of spray dried lipid nanoparticles loaded with *Lippia sidoides* essential oil. Biomolecules. 2020;10(5):693. doi: 10.3390/biom10050693.
 38. Sharma G, Kamboj S, Thakur K, Negi P, Raza K, Katore OP. Delivery of thermoresponsive-tailored mixed micellar nanogel of lidocaine and prilocaine with improved dermatokinetic profile and therapeutic efficacy in topical anaesthesia. AAPS PharmSciTech, 2017;18(3):790-802. doi: 10.1208/s12249-016-0561-8.
 39. Lima CS, Varca JP, Alves VM, Nogueira KM, Cruz CP, Rial-Hermida MI, *et al.* Mucoadhesive Polymers and Their Applications in Drug Delivery Systems for the Treatment of Bladder Cancer. Gels. 2022;8(9):587. doi: 10.3390/gels8090587.
 40. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. 1 ed. Brasília: Anvisa, 2004.
 41. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

42. CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts: Approved Standard – Third Edition. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
43. Alves DN, Monteiro AFM, Andrade PN, Lazarini JG, Abílio GMF, Guerra FQS, *et al.* Docking prediction, antifungal activity, anti-biofilm effects on *Candida* spp., and toxicity against human cells of cinnamaldehyde. *Molecules*, 2020;25(24):5969. doi:10.3390/molecules25245969.
44. Gusmão ICCP, Pithon MM, Santos AE, Silva TS, Sampaio FC. Atividade antibacteriana da *Lippia sidoides* Cham contra periodontopatógenos: estudo In vitro. *Research, Society and Development*. 2022;11(7):e3311727141-e3311727141. doi:10.33448/rsd-v11i7.27141.
45. Marco CA, Teixeira E, Simplício A, Oliveira C, Costa J, Feitosa J. Chemical composition and allelopathic activity of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. *Chilean journal of agricultural research*. 2012;72(1):157-160. doi:10.4067/S0718-58392012000100025.
46. Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VL. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2004. doi: 10.1590/S1517-83822004000300001.
47. Girard M, Bee G. Invited review: Tannins as a potential alternative to antibiotics to prevent coliform diarrhea in weaned pigs. *Animal*. 2020;14(1):95-107. doi:10.1017/s1751731119002143.
48. Barreto HM, Fontinele FC, Oliveira AP, Arcanjo DDR, Santos BHC, Abreu APL, *et al.* Phytochemical Prospection and Modulation of Antibiotic Activity In Vitro by *Lippia origanoides* H.B.K. in Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *BioMed Res Int*. 2014;2014:1-7. doi:10.1155/2014/305610.

49. Pérez Zamora C, Torres C, Nuñez M. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from Verbenaceae Species Growing in South America. *Molecules*. 2018;23(3):544. doi:10.3390/molecules23030544.
50. Dewan M, Sarkar G, Bhowmik M, Das B, Chattoapadhyay AK, Rana D, *et al*. Effect of gellan gum on the thermogelation property and drug release profile of Poloxamer 407 based ophthalmic formulation. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;102:258-265. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.03.194.
51. Vasconcelos T, Prezotti F, Araújo F, Lopes C, Loureiro A, Marques S, *et al*. Third-generation solid dispersion combining Soluplus and poloxamer 407 enhances the oral bioavailability of resveratrol. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;595:120245. doi:10.1016/j.ijpharm.2021.120245.
52. Pontremoli C, Boffito M, Fiorilli S, Laurano R, Torchio A, Bari A, *et al*. Hybrid injectable platforms for the *in situ* delivery of therapeutic ions from mesoporous glasses. *Chemical engineering journal*. 2018;340:103-113. doi: 10.1016/j.cej.2018.01.073.
53. Pardeshi SR, More MP, Patil PB, Mujumdar A, Naik JB. Statistical optimization of voriconazole nanoparticles loaded carboxymethyl chitosan-poloxamer based *in situ* gel for ocular delivery: In vitro, ex vivo, and toxicity assessment. *Drug Delivery and Translational Research*. 2022;12(12):3063-3082. doi:10.1007/s13346-022-01171-0.
54. Hsieh HY, Lin WY, Lee AL, Li YC, Chen YJ, Chen KC, *et al*. Hyaluronic acid on the urokinase sustained release with a hydrogel system composed of poloxamer 407: HA/P407 hydrogel system for drug delivery. *PloS one*. 2020;15(3):e0227784. doi: 10.1371/journal.pone.0227784.

55. Schulz H, Özkan G, Baranska M, Krüger H, Özcan M. Characterisation of essential oil plants from Turkey by IR and Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*. 2005;39(2):249-256. doi: 10.1016/j.vibspec.2005.04.009.
56. Saraiva AGQ, Saraiva GD, Albuquerque RL, Nogueira CES, Teixeira AMR, Lima LB, *et al.* Chemical analysis and vibrational spectroscopy study of essential oils from *Lippia sidoides* and of its major constituent. *Vibrational Spectroscopy*. 2020;110:103111. doi:10.1016/j.vibspec.2020.103111.
57. Kim IY, Yoo MK, Kim BC, Kim SK, Lee HC, Cho CS. Preparation of semi-interpenetrating polymer networks composed of chitosan and poloxamer. *International journal of biological macromolecules*. 2006;38(1):51-58. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2005.12.020.
58. Branca C, D'Angelo G, Crupi C, Khouzami K, Rifici S, Ruello G, *et al.* Role of the OH and NH vibrational groups in polysaccharide-nanocomposite interactions: A FTIR-ATR study on chitosan and chitosan/clay films. *Polymer*. 2016;99:614-622. doi: 10.1016/j.polymer.2016.07.086.
59. Silverstein RM, Bassler GC. Spectrometric identification of organic compounds. *Journal of Chemical Education*. 1962;39(11):546.
60. Souza MPC, Sábio RM, Ribeiro TC, Santos AM, Meneguim AB, Chorilli M. Highlighting the impact of chitosan on the development of gastroretentive drug delivery systems. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;159:804-822. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.05.104.
61. Furtado GTFS, Fideles TB, Cruz RCAL, Souza JWL, Barbero MAR, Fook MVL. Chitosan/NaF Particles Prepared Via Ionotropic Gelation: Evaluation of Particles Size and Morphology. *Materials Research*. 2018;21(4). doi:10.1590/1980-5373-mr-2018-0101.

62. Tiyaaboonchai W. Chitosan nanoparticles: a promising system for drug delivery. Naresuan University Journal: Science and Technology (NUJST). 2013;11(3):51-66.
63. Shelke S, Shahi S, Jalalpure S, Dhamecha D, Shengule S. Formulation and evaluation of thermoreversible mucoadhesive in-situ gel for intranasal delivery of naratriptan hydrochloride. Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2015;29:238-244. doi:10.1016/j.jddst.2015.08.003.
64. Panomsuk S, Keawsri K, Limsatjananit C, Asaneesantiwong N, Chomto P, Satiraphan M. Development of Clove Oil *In situ* Gels for Buccal Mucoadhesive. In Key Engineering Materials. 2020;859:57-61. doi:10.4028/www.scientific.net/kem.859.57.
65. Shafiee A, Kehtari M, Zarei Z, Soleimani M, Varshochian R, Ahmadi A, et al. An *in situ* hydrogel-forming scaffold loaded by PLGA microspheres containing carbon nanotube as a suitable niche for neural differentiation. Materials Science and Engineering: C. 2021;120:111739. doi: 10.1016/j.msec.2020.111739.
66. Ferreira SBDS. A utilização das análises mecânicas e reológicas no desenvolvimento de sistemas bioadesivos termorresponsivos (Master's thesis, Universidade Estadual de Maringá). 2015.
67. Liao Y, Sun Y, Wang Z, Zhong M, Li R, Yan S, et al. Structure, rheology, and functionality of emulsion-filled gels: Effect of various oil body concentrations and interfacial compositions. Food Chemistry: X. 2022;16: 100509. doi: 10.1016/j.fochx.2022.100509.
68. Russo E, Villa C. Poloxamer hydrogels for biomedical applications. Pharmaceutics. 2019;11(12):671. doi: 10.3390/pharmaceutics11120671.

69. Ur-Rehman T, Tavelin S, Gröbner G. Chitosan *in situ* gelation for improved drug loading and retention in poloxamer 407 gels. *International journal of pharmaceutics*. 2011;409(1-2):19-29. doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.02.017.
70. Botelho MA, Rao VS, Carvalho CBM, Bezerra-Filho JG, Fonseca SGC, Vale ML, *et al.* Lippia sidoides and Myracrodruon urundeuva gel prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;113(3):471-478. doi:10.1016/j.jep.2007.07.010.
71. Arana-Sánchez A, Estarrón-Espinosa M, Obledo-Vázquez EN, Padilla-Camberos E, Silva-Vázquez R, Lugo-Cervantes E. Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H. B. K.) with different composition when microencapsulated in β -cyclodextrin. *Letters in Applied Microbiology*. 2010;50(6):585-590. doi:10.1111/j.1472-765x.2010.02837.x.
72. Esmaeili A, Asgari A. In vitro release and biological activities of Carum copticum essential oil (CEO) loaded chitosan nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015;81:283-290. doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.08.010.
73. Bakry AM, Abbas S, Ali B, Majeed H, Abouelwafa MY, Mousa A, *et al.* Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2015;15(1):143-182. doi:10.1111/1541-4337.12179.

5. CONCLUSÃO

A encapsulação do OELS em um gel *in situ* de P407+Quitosana conferiu características de potencial mucoadesão e estabilidade, promoveu proteção aos constituintes voláteis do óleo essencial, e potencializou a atividade antimicrobiana do OELS contra *S. aureus*, *E. coli*, e *C. albicans*. Os resultados aqui expostos são promissores e justificam a relevância de pesquisas visando o desenvolvimento de formulações inovadoras carregadas com OEs isoladamente ou em associação com drogas como ferramenta no tratamento de ISCs.

REFERÊNCIAS

Aguilar A, Zein N, Harmouch E, Hafdi B, Bornert F, Offner D, *et al.* Application of Chitosan in Bone and Dental Engineering. *Molecules*. 2019;24(16):3009. doi:10.3390/molecules24163009.

Amora-Silva BF, Ribeiro SC, Vieira CL, Mendes FR, Vieira-Neto AE, Abdon APV, *et al.* Clinical efficacy of new α -bisabolol mouthwashes in postoperative complications of maxillofacial surgeries: a randomized, controlled, triple-blind clinical trial. *Clin Oral Investig*. 2019;23(2):577-584. doi: 10.1007/s00784-018-2464-4.

Anand U, Jacobo-Herrera N, Altemimi A, Lakhssassi N. A Comprehensive Review on Medicinal Plants as Antimicrobial Therapeutics: Potential Avenues of Biocompatible Drug Discovery. *Metabolites*. 2019;9(11):258. doi:10.3390/metabo9110258.

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(2):446-475. doi:10.1016/j.fct.2007.09.106.

Balhim I, Tonani L, Von Zeska Kress MR, Oliveira WP. *Lippia sidoides* essential oil encapsulated in lipid nanosystem as an anti-Candida agent. *Industrial Crops and Products*. 2019;127:73-81. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.10.064.

Balhim I, Rosa DM, Souza CR, Ana R, Durazzo A, Lucarini M, *et al.* Factors affecting the retention efficiency and physicochemical properties of spray dried lipid nanoparticles loaded with *Lippia sidoides* essential oil. *Biomolecules*. 2020;10(5):693. doi: 10.3390/biom10050693.

Bansal M, Mittal N, Yadav SK, Khan G, Gupta P, Mishra B, *et al.* Periodontal thermoresponsive, mucoadhesive dual antimicrobial loaded in-situ gel for the treatment of periodontal disease: Preparation, in-vitro characterization and

antimicrobial study. J Oral Biol Craniofac Res. 2018;8(2):126-133.
doi:10.1016/j.jobcr.2017.12.005.

Barlean MC, Balcos C, Bobu LI, Cretu CI, Platon AL, Stupu A, *et al.*
Microbiological evaluation of surgical site infections in the Clinic of Oral and
Maxillofacial Surgery of the Sf. Spiridon Clinical Hospital in Iasi,
Romania. Revista de chimie. 2019;70(11):4077-4082.

Barreto HM, Fontinele FC, Oliveira AP, Arcanjo DDR, Santos BHC, Abreu APL,
et al. Phytochemical Prospection and Modulation of Antibiotic Activity In Vitro
by *Lippia origanoides* H.B.K. in Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*.
BioMed Res Int. 2014;2014:1-7. doi:10.1155/2014/305610.

Barreto JO, Nascimento FBSA, Fonseca SGDC, Sampaio LS, Silva CR,
Andrade Neto JB, *et al.* Microbiological evaluation of an experimental denture
cleanser containing essential oil of *Lippia sidoides*. Biofouling. 2021;37(1):117-
130. doi:10.1080/08927014.2021.1885649.

Bartella AK, Lemmen S, Burnic A, Kloss-Brandstätter A, Kamal M, Breisach T,
et al. Influence of a strictly perioperative antibiotic prophylaxis vs a prolonged
postoperative prophylaxis on surgical site infections in maxillofacial
surgery. *Infection*. 2018;46(2):225-230. doi: 10.1007/s15010-017-1110-4.

Bertolini M, Dongari-Bagtzoglou A. The relationship of *Candida albicans* with
the oral bacterial microbiome in health and disease. In Oral mucosal immunity
and microbiome 2019:69-78. doi:10.1007/978-3-030-28524-1_6.

Bilia AR, Guccione C, Isacchi B, Righeschi C, Firenzuoli F, Bergonzi MC.
Essential Oils Loaded in Nanosystems: A Developing Strategy for a Successful
Therapeutic Approach. Evid Based Complement Alternat Med. 2014;2014:1-
14. doi:10.1155/2014/651593.

Bodratti A, Alexandridis P. Formulation of Poloxamers for Drug Delivery. J
Funct Biomater. 2018;9(1):11. doi:10.3390/jfb9010011.

Botelho MA, Rao VS, Carvalho CBM, Bezerra-Filho JG, Fonseca SGC, Vale ML, *et al.* *Lippia sidoides* and *Myracrodruon urundeuva* gel prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;113(3):471-478. doi:10.1016/j.jep.2007.07.010.

Botelho MA, Santos RA dos, Martins JG, Carvalho CO, Paz MC, Azenha C, *et al.* Comparative effect of an essential oil mouthrinse on plaque, gingivitis and salivary *Streptococcus mutans* levels: a double blind randomized study. *Phytotherapy Research*. 2009;23(9):1214-1219. doi:10.1002/ptr.2489.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011. 126p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos/Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009a.

BRASIL. Ministério da Saúde RENISUS. **Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS**. Espécies vegetais, 2009b. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sctie/daf/pnpmpf/ppnmpf/arquivos/2017/renisus1.pdf> >. Acesso em: 26 nov. 2022.

Caramella CM, Rossi S, Ferrari F, Bonferoni MC, Sandri G. Mucoadhesive and thermogelling systems for vaginal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015;92:39-52. doi:10.1016/j.addr.2015.02.001.

Chaudhary B, Verma S. Preparation and Evaluation of Novel *In situ* Gels Containing Acyclovir for the Treatment of Oral Herpes Simplex Virus Infections. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:1-7. doi:10.1155/2014/280928.

Chen Y, Lee JH, Meng M, Cui N, Dai CY, Jia Q, *et al*. An Overview on Thermosensitive Oral Gel Based on Poloxamer 407. *Materials*. 2021;14(16):4522. doi:10.3390/ma14164522.

Chua RAHW, Lim SK, Chee CF, Chin SP, Kiew LV, Sim KS, *et al*. Surgical site infection and development of antimicrobial sutures: a review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2022;26(3):828-845. doi: 10.26355/eurev_202202_27991.

Chye RML, Perrotti V, Piattelli A, Iaculli F, Quaranta A. Effectiveness of Different Commercial Chlorhexidine-Based Mouthwashes After Periodontal and Implant Surgery. *Implant Dent*. 2019;28(1):74-85. doi:10.1097/id.0000000000000854.

Coelho Junior É, Maciel PP, Muniz IAF, Silva HY, Sousa SA, Valença AM, *et al*. Poloxamer 407/chitosan micelles can improve α -Tocopherol effect on oral keratinocytes proliferation. *Journal of Materials Research*. 2021;36(7):1447-1455. doi:10.1557/s43578-021-00169-7.

Cooney CM. Personal care products: Triclosan Comes under Scrutiny. *Environ Health Perspect*. 2010;118(6). doi:10.1289/ehp.118-2898873.

Cosola S, Giammarinaro E, Marconcini S, Lelli M, Lorenzi C, Genovesi AM. Prevention of bacterial colonization on suture threads after oral surgery: comparison between propolis- and chlorhexidine-based formulae. *J Biol Regul Homeost Agent*. 2019;33:1275-81.

Costa AS, Arrigoni-Blank MDF, Blank AF, Mendonça AB, Amancio VF, Ledo ADS. In vitro establishment of *Lippia sidoides* Cham. *Horticultura Brasileira*. 2007;25:68-72. doi: 10.1590/S0102-05362007000100013.

Costa Neto OC, Lobo LA, Iorio NLP, Vasconcelos MFC, Maia LC, Tannure PN, *et al.* Oral bacteria adherence to suture threads: an in vitro study. *Oral Maxillofac Surg.* 2015;19(3):275-280. doi: 10.1007/s10006-015-0487-4.

Costa RC, Cavalcanti YW, Valença AMG, Almeida LDFDD. Sutures modified by incorporation of chlorhexidine and cinnamaldehyde: anti-Candida effect, bioavailability and mechanical properties. *Revista de Odontologia da UNESP.* 2019;48. doi:10.1590/1807-2577.04219.

Das A, Satyaprakash K. Antimicrobial properties of natural products: A review. *Pharma Innov. J.* 2018;7(6):532-537.

Dhillon GS, Kaur S, Brar SK, Verma M. Green synthesis approach: extraction of chitosan from fungus mycelia. *Crit Rev Biotechnol.* 2012;33(4):379-403. doi:10.3109/07388551.2012.717217.

Dominioni L, Imperatori A, Rotolo N, Rovera F. Risk factors for surgical infections. *Surg Infect (Larchmt).* 2006;7(Supplement 2):s-9-12. doi: 10.1089/sur.2006.7.s2-9.

Dragovic M, Pejovic M, Stepic J, Colic S, Dozic B, Dragovic S, *et al.* Comparison of four different suture materials in respect to oral wound healing, microbial colonization, tissue reaction and clinical features—randomized clinical study. *Clin Oral Investig.* 2020;24(4):1527-1541. doi: 10.1007/s00784-019-03034-4.

Dumortier G, Grossiord JL, Agnely F, Chaumeil JC. A Review of Poloxamer 407 Pharmaceutical and Pharmacological Characteristics. *Pharm Res.* 2006;23(12):2709-2728. doi:10.1007/s11095-006-9104-4.

Faria RL, Cardoso LML, Akisue G, Pereira CA, Junqueira JC, Jorge AOC, *et al.* Antimicrobial activity of *Calendula officinalis*, *Camellia sinensis* and chlorhexidine against the adherence of microorganisms to sutures after

extraction of unerupted third molars. *J Appl Oral Sci.* 2011;19(5):476-482.
doi:10.1590/s1678-77572011000500007.

Fontenelle ROS, Morais SM, Brito EHS, Kerntopf MR, Brilhante RSN, Cordeiro RA, *et al.* Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59(5):934–40. doi: 10.1093/jac/dkm066.

Freires I, Denny C, Benso B, Alencar S, Rosalen P. Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Isolated Constituents against Cariogenic Bacteria: A Systematic Review. *Molecules.* 2015;20(4):7329-7358.
doi:10.3390/molecules20047329.

García-Salinas S, Elizondo-Castillo H, Arruebo M, Mendoza G, Irusta S. Evaluation of the Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of Different Components of Natural Origin Present in Essential Oils. *Molecules.* 2018;23(6):1399. doi:10.3390/molecules23061399.

Garner BH, Anderson DJ. Surgical site infections: an update. *Infect Dis Clin North Am.* 2016;30(4):909-929. doi: 10.1016/j.idc.2016.07.010.

Girão VCC, Nunes-Pinheiro DCS, Morais SM, Sequeira JL, Gioso MA. A clinical trial of the effect of a mouth-rinse prepared with *Lippia sidoides* Cham essential oil in dogs with mild gingival disease. *Preventive Veterinary Medicine.* 2003;59(1-2):95-102. doi:10.1016/s0167-5877(03)00051-5.

Girard M, Bee G. Invited review: Tannins as a potential alternative to antibiotics to prevent coliform diarrhea in weaned pigs. *Animal.* 2020;14(1):95-107.
doi:10.1017/s1751731119002143.

Giuliano E, Paolino D, Fresta M, Cosco D. Mucosal Applications of Poloxamer 407-Based Hydrogels: An Overview. *Pharmaceutics.* 2018;10(3):159.
doi:10.3390/pharmaceutics10030159.

Gomes SVF, Nogueira PCL, Moraes VRS. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. *Eclética Química*. 2011;36:64-77. doi: 10.1590/S0100-46702011000100005.

Gratieri T, Gelfuso GM, Rocha EM, Sarmento VH, Freitas O, Lopez RFV. A poloxamer/chitosan *in situ* forming gel with prolonged retention time for ocular delivery. *Eur J Pharm Biopharm*. 2010;75(2):186-193. doi:10.1016/j.ejpb.2010.02.011.

Grosso FC, Ramacciato JC, Simões RP, Flório FM, Sartoratto A. Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil, and chlorhexidine against oral microorganisms. *Int Dent J*. 2002;52(6):433-437. doi:10.1111/j.1875-595x.2002.tb00638.x.

Hearnden V, Sankar V, Hull K, Juras DV, Greenberg M, Kerr AR, *et al*. New developments and opportunities in oral mucosal drug delivery for local and systemic disease. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2012;64(1):16-28. doi:10.1016/j.addr.2011.02.008.

Karde P, Sethi K, Mahale S, Mamajiwala A, Kale A, Joshi C. Comparative evaluation of two antibacterial-coated resorbable sutures versus noncoated resorbable sutures in periodontal flap surgery: A clinico-microbiological study. *J Indian Soc Periodontol*. 2019;23(3):220. doi:10.4103/jisp.jisp_524_18.

Katz L, Baltz RH. Natural product discovery: past, present, and future. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2016;43(2-3):155-176. doi:10.1007/s10295-015-1723-5.

Kolasiński W. Surgical site infections—review of current knowledge, methods of prevention. *Pol Przegl Chir*. 2019;9:41-47. doi: 10.5604/01.3001.0012.7253.

Kumari A, Yadav SK, Yadav SC. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2010;75(1):1-18. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.09.001.

Linden L, Farias I, Santos AE, Silveira K, Sampaio F. Antimicrobial evaluation of sutures containing *Lippia sidoides* Cham essential oil. In *Proceedings of MOL2NET 2018, International Conference on Multidisciplinary Sciences, 4th edition*. 2018:1.

Lovato C, Wagner JD. Infection rates following perioperative prophylactic antibiotics versus postoperative extended regimen prophylactic antibiotics in surgical management of mandibular fractures. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009;67(4):827-832. doi: 10.1016/j.joms.2008.06.093.

Man A, Santacroce L, Iacob R, Mare A, Man L. Antimicrobial activity of six essential oils against a group of human pathogens: A comparative study. *Pathogens*. 2019;8(1):15. doi: 10.3390/pathogens8010015.

Manandhar S, Luitel S, Dahal RK. In Vitro Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants against Human Pathogenic Bacteria. *J Trop Med*. 2019;2019:1-5. doi:10.1155/2019/1895340.

Mansuri S, Kesharwani P, Jain K, Tekade RK, Jain NK. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. *React Funct Polym*. 2016;100:151-172. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2016.01.011.

Maunders E, Welch M. Matrix exopolysaccharides; the sticky side of biofilm formation. *FEMS microbiol lett*, 2017;364(13):fnx120. doi: 10.1093/femsle/fnx120.

Mohan S, Jayanth BS, Saralaya S, Sunil SM, Sageer ASM, Harikrishnan R. Comparative Study on the Efficacy of Postsurgical Oral Prophylactic Antibiotic Versus Antimicrobial Suture Placement Alone in Preventing Surgical Site Infection After Removal of Impacted Mandibular Third Molar. *J Maxillofac Oral Surg*. 2019;19(4):546-551. doi:10.1007/s12663-019-01267-0.

Morais SR, Oliveira TLS, Oliveira LP, Tresvenzol LMF, Conceição EC, Rezende MH, *et al*. Essential Oil Composition, Antimicrobial and

Pharmacological Activities of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) From São Gonçalo do Abaeté, Minas Gerais, Brazil. *Pharmacogn mag.* 2016;12(48). doi:10.4103/0973-1296.192197.

Mota APP, Dantas JCP, Frota CC. Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citrates*, *Plectranthus amboinicus*, and *Cinnamomum zeylanicum* against *Mycobacterium tuberculosis*. *Ciência Rural.* 2018;48(6). doi:10.1590/0103-8478cr20170697.

Munin A, Edwards-Lévy F. Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review. *Pharmaceutics.* 2011;3(4):793-829. doi:10.3390/pharmaceutics3040793.

Ni ZJ, Wang X, Shen Y, Thakur K, Han J, Zhang JG, *et al.* Recent updates on the chemistry, bioactivities, mode of action, and industrial applications of plant essential oils. *Trends Food Sci Technol.* 2021;110:78-89. doi: 10.1016/j.tifs.2021.01.070.

Nunes RDS, Lira AAM, Lacerda CDM, Silva DOBD, Silva JAD, Santana DPD. Obtention and evaluation of odontologic products made with the crude extract of *Lippia sidoides* Cham (Verbenaceae) over the dental biofilm. *Rev. odontol. UNESP.* 2013;35(4), 275-283.

O'Leary N, Calviño CI, Martínez S, Lu-Irving P, Olmstead RG, Múlgura ME. Evolution of morphological traits in Verbenaceae. *Am J Bot.* 2012;99(11):1778-1792. doi:10.3732/ajb.1200123.

OMS. World Health Organization. *The world health report 2002: reducing risks, promoting healthy life.* World Health Organization. 2002.

Owens CD, Stoessel K. Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. *J Hosp Infect.* 2008;70:3-10. doi: 10.1016/S0195-6701(08)60017-1.

Pedro AS, Cabral-Albuquerque E, Ferreira D, Sarmiento B. Chitosan: An option for development of essential oil delivery systems for oral cavity care? *Carbohydrate Polymers*. 2009;76(4):501-508. doi:10.1016/j.carbpol.2008.12.016.

Pérez Zamora C, Torres C, Nuñez M. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Essential Oils from Verbenaceae Species Growing in South America. *Molecules*. 2018;23(3):544. doi:10.3390/molecules23030544.

Philip N, Leishman S, Walsh L. Potential role for natural products in dental caries control. *Oral Health Prev Dent*. 2019;17(5):479-85. doi:10.3290/j.ohpd.a42741.

Qin Y, Li P. Antimicrobial Chitosan Conjugates: Current Synthetic Strategies and Potential Applications. *Int J Mol Sci*. 2020;21(2):499. doi:10.3390/ijms21020499.

Ranch KM, Maulvi FA, Koli AR, Desai DT, Parikh RK, Shah DO. Tailored Doxycycline Hyclate Loaded *In situ* Gel for the Treatment of Periodontitis: Optimization, In Vitro Characterization, and Antimicrobial Studies. *AAPS PharmSciTech*. 2021;22(3). doi:10.1208/s12249-021-01950-x.

Rodrigues IS, Oliveira D, Menezes PC, Costa F, Carlos M, Pereira SLS. Effect of *Lippia sidoides* in mouthrinses on de novo plaque formation: A double-blind clinical study in humans. *Indian Journal of Dental Research*. 2013;24(5):533. doi:10.4103/0970-9290.123360.

Rodrigues ÍSC, Tavares VN, Pereira SLS, Costa FN. Antiplaque and antigingivitis effect of *Lippia sidoides*: a double-blind clinical study in humans. *Journal of Applied Oral Science*. 2009;17(5):404-407. doi:10.1590/s1678-77572009000500010.

Ruel-Gariépy E, Leroux JC. *In situ*-forming hydrogels—review of temperature-sensitive systems. *Eur J Pharm Biopharm.* 2004;58(2):409-426. doi:10.1016/j.ejpb.2004.03.019.

Sahtoe AP, Duraku LS, Van Der Oest MJ, Hundepool CA, De Kraker M, Bode LG, *et al.* Warm Weather and Surgical Site Infections: A Meta-analysis. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2021;9(7):e3705. doi: 10.1097/GOX.0000000000003705.

Saikia C, Gogoi P, Maji TK. Chitosan: A promising biopolymer in drug delivery applications. *J. Mol. Genet. Med. S.* 2015;4(006):899-910. doi: 10.4172/1747-0862.S4-006.

Santos AC, Rossato M, Serafini LA, Bueno M, Crippa LB, Sartori VC, *et al.* Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Farmacognosia.* 2010;20:154-159. doi: 10.1590/S0102-695X2010000200003.

Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VL. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2004. doi: 10.1590/S1517-83822004000300001.

Scaffaro R, Botta L, Sanfilippo M, Gallo G, Palazzolo G, Puglia AM. Combining in the melt physical and biological properties of poly(caprolactone) and chlorhexidine to obtain antimicrobial surgical monofilaments. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2012;97(1):99-109. doi:10.1007/s00253-012-4283-x.

Schmolka IR. Physical Basis for Poloxamer Interactions. *Ann N Y Acad Sci.* 1994;720(1):92-97. doi:10.1111/j.1749-6632.1994.tb30437.x.

SenGupta M, Banerjee D, Sengupta M, Sarkar S, Nag S, Singh RM. In vitro efficacy of triclosan coated polyglactin 910 suture against common bacterial

pathogen causing surgical site infection. *International Journal of Infection Control*. 2014;10(2). doi:10.3396/ijic.v10i2.11840.

Seydibeyoğlu EA, Ayşe IŞIK. The Effect of Natural Antimicrobial Agents on the Characteristics of Surgical Sutures. *Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*. 2020;22(64):11-20. doi: 10.21205/deufmd.2020226402.

Sherry M, Charcosset C, Fessi H, Greige-Gerges H. Essential oils encapsulated in liposomes: a review. *J Liposome Res*. 2013;23(4):268-275. doi:10.3109/08982104.2013.819888.

Silva GC, Veras BO, Assis CRD, Navarro DMDAF, Diniz DLV, Santos, FAB, et al. Chemical composition, antimicrobial activity and synergistic effects with conventional antibiotics under clinical isolates by essential oil of *Hymenaea rubriflora* Ducke (FABACEAE). *Nat Prod Res*. 2021;35(22):4828-4832. doi : 10.1080/14786419.2020.1729150.

Silva PSL, Machado PYC, Catunda BT, Barbosa APN. Clinical effect of a gel containing *Lippia sidoides* on plaque and gingivitis control. *European Journal of Dentistry*; 2013;7(01), 028-034. doi: 10.1055/s-0039-1698992.

Silveira KGD. Avaliação de tolerância e segurança de espuma contendo óleos essenciais com potencial para prevenção e tratamento da mucosite oral- estudo de fase I. Universidade Federal da Paraíba, 2018.

Sogias IA, Williams AC, Khutoryanskiy VV. Why is Chitosan Mucoadhesive? *Biomacromolecules*. 2008;9(7):1837-1842. doi:10.1021/bm800276d.

Stringaro A, Colone M, Angiolella L. Antioxidant, Antifungal, Antibiofilm, and Cytotoxic Activities of *Mentha* spp. Essential Oils. *Medicines*. 2018;5(4):112. doi:10.3390/medicines5040112.

Syukri DM, Nwabor OF, Singh S, Ontong JC, Wunnoo S, Paosen S, *et al.* Antibacterial-coated silk surgical sutures by ex situ deposition of silver nanoparticles synthesized with *Eucalyptus camaldulensis* eradicates infections. *J Microbiol Methods*. 2020;174:105955. doi: 10.1016/j.mimet.2020.105955.

Tongnuanchan P, Benjakul S. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *J Food Sci*. 2014;79(7):R1231-R1249. doi:10.1111/1750-3841.12492.

Tummalapalli M, Anjum S, Kumari S, Gupta B. Antimicrobial surgical sutures: Recent developments and strategies. *Polymer Reviews*, 2016;56(4):607-630. doi: 10.1080/15583724.2015.1119163.

Ur-Rehman T, Tavelin S, Gröbner G. Chitosan *in situ* gelation for improved drug loading and retention in poloxamer 407 gels. *Int J Pharm*. 2011;409(1-2):19-29. doi:10.1016/j.ijpharm.2011.02.017.

Veras HNH, Rodrigues FFG, Botelho MA, Menezes IRA, Coutinho HDM, Costa JGM. Enhancement of aminoglycosides and β -lactams antibiotic activity by essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the Thymol. *Arabian Journal of Chemistry*. 2017;10:S2790-S2795. doi:10.1016/j.arabjc.2013.10.030.

Veras HNH, Rodrigues FFG, Botelho MA, Menezes IRA, Coutinho HDM, Costa JGM. Antimicrobial Effect of *Lippia sidoides* and Thymol on *Enterococcus faecalis* Biofilm of the Bacterium Isolated from Root Canals. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:1-5. doi:10.1155/2014/471580.

Yazdankhah SP, Scheie AA, Høiby EA, Lunestad BT, Heir E, Fotland TØ, *et al.* Triclosan and Antimicrobial Resistance in Bacteria: An Overview. *Microb Drug Resist*. 2006;12(2):83-90. doi:10.1089/mdr.2006.12.83.

Yuan H, Ma Q, Ye L, Piao G. The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. *Molecules*. 2016;21(5):559. doi:10.3390/molecules21050559.

Zanotto AW, Kanemaru MYS, Souza FG, Duarte MCT, Andrade CJ, Pastore GM. Enhanced antimicrobial and antioxidant capacity of *Thymus vulgaris*, *Lippia sidoides*, and *Cymbopogon citratus* emulsions when combined with mannosylerythritol a lipid biosurfactant. *Food Research International*. 2023;163:112213. doi: 10.1016/j.foodres.2022.112213.

Zhang C, Hui D, Du C, Sun H, Peng W, Pu X, *et al*. Preparation and application of chitosan biomaterials in dentistry. *Int J Biol Macromol*. 2021;167:1198-1210. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.11.073.