

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE SAÚDE COMUNITÁRIA
MESTRADO EM SAÚDE PÚBLICA / EPIDEMIOLOGIA

Eficácia do alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) e Neem (*Azadirachta indica*) no controle da placa bacteriana e gengivite em uma comunidade carente de Fortaleza : um ensaio clínico controlado randomizado

Marco Antonio Botelho

Orientador:

Prof. Dr. Jorg Heukelbach

CO-Orientador:

Prof. Dr. Henrique Clasen Scarparo

Fortaleza 2005

MARCO ANTONIO BOTELHO

EFICÁCIA DO ALECRIM PIMENTA (*Lippia sidoides*) E NEEM (*Azadirachta indica*) NO CONTROLE DA PLACA BACTERIANA E GENGVITE EM UMA COMUNIDADE CARENTE EM FORTALEZA: UM ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO RANDOMIZADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública / Epidemiologia do Departamento de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde Pública.

Aprovado em 29.04.05

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jörg Heukelbach (Orientador)
Universidade Federal do Ceará- UFC

Prof. Dr. Henrique Clasen Scarparo (Co-Orientador)
Universidade Federal do Ceará- UFC

Profa. Dra. Cibele Barreto Mano
Universidade Federal do Ceará- UFC

Profa. Dra. Telma Leda G. Lemos
Universidade Federal do Ceará- UFC

FORTALEZA-CE

2005

**À minha Mãe... Orientadora
na escola da vida !!**

Agradecimentos

Na vida conhecemos pessoas que ganham respeito de duas maneiras uma ao se impor pela autoridade e arrogância outras pela humildade e intelecto.. durante este ano tive a oportunidade de conhecer uma que optou pela segunda opção. Ao Prof. Jörg Heukelbach, meu amigo, irmão e orientador pela sua paciência e humildade....Por ter acreditado tornar realidade um sonho que esteve acalentado por 10 anos de pesquisas pré-clínicas...O seu trabalho não será esquecido muito obrigado pelas sugestões, criticas conselhos, amizade e compreensão...!!!
Ao Prof. Francisco José de Abreu Matos e sua esposa (*in memoriam*) por ter me proporcionado a oportunidade de me introduzir na pesquisa de produtos naturais. Sem a sua ajuda e amizade nada haveria começado ...O senhor tem um lugar especial no meu coração.

Ao meu Amigo Rui Passos Verdadeiro amigo e irmão por ter compreendido a minha ausência durante 25 anos de verdadeira e profunda amizade. Muito Obrigado e me desculpa “cumpade” !!!

Ao amigo e irmão Prof. Dr. Said Fonseca pelos momentos de crítica, sugestões e descontração e de imprescindível colaboração na confecção e preparo dos anti-sépticos bucais peça chave para o sucesso desse trabalho...!!!

A Dra. Cibele pela paciência e consistente forma de aprendizado em Microbiologia, estarei em dívida com você ... !

A Dra. Telma G. Lemos pelas sugestões imprescindíveis para esta pesquisa e por ter acreditado na continuação de um trabalho durante os últimos dez anos de pesquisas.

As minha colaboradoras Danusa Montenegro, Bia Codes , Lia Pontes não tenho palavras pra agradecer tamanha força e colaboração, durante a pesquisa clínica e laboratorial sem vocês este trabalho não teria chegado ate aqui Muito Obrigado !!!

À Cintia por ter me proporcionados os melhores momentos de amizade carinho e amor incondicional.!!!

Ao Dr. Henrique C. Sacarparo !!! pela minha orientação ainda como monitor e hoje como seu colega... suas incisivas criticas e sugestões ... foram e ainda são essenciais pra mim !!

Ao meu irmão e sobrinhos por terem compreendido a minha ausência como membro da nossa família... me perdoem !!!

Ao Roberto e ao “bactéria” da borracharia pela presteza e momentos de descontração no período do ensaio clínico.

A Marilene, D. rosa , Luis , Paula e todos que fazem parte da família Fundação Mandacaru !!! meu muito obrigado pela sua acolhida e presteza nesses meses de intensas atividades...

Ao Prof. Talapala Naidu por ter me iniciado os primeiros passos na pesquisa científica

À Vanessa por ter me proporcionado acreditar no amor ... novamente ..Obrigado minha linda

Resumo

Doenças bucais como a cárie e a gengivite se configuram como um dos principais problemas da saúde pública em todo o mundo. A microbiota oral, em particular os estreptococos do grupo mutans, estão intimamente relacionados à formação do biofilme bacteriano e das doenças dele decorrentes. Uma redução do número destes microrganismos implica, portanto, em prevenção e controle destas doenças. Neste trabalho foram testadas três soluções: clorexidina a 0,12% (controle positivo) e soluções hidro-etanólica de Neem (*Azadirachta Indica*) e aquosas a partir do óleo essencial do Alecrim pimenta (*lippia sidoiddes*) a 1,0 %. Oitenta e um voluntários sadios foram randomizados em três grupos experimentais de acordo com a solução em teste. Exames clínicos para pesquisa e quantificação de índices periodontais foram realizados nos três grupos. Amostras de saliva foram colhidas, diluídas e inoculadas (50 µl) em placas contendo Agar MSB. Todas as placas foram incubadas em condições de microaerofilia sob atmosfera de 5% CO₂ por 48 horas. Após estes procedimentos, foram obtidos os valores basais e comparados com os valores realizados após uma semana de bochechos com as soluções teste sendo realizado uma avaliação quantitativa nestes índices assim como nos números de unidades formadoras de colônias de microrganismos do grupo mutans, considerando os valores iniciais (sem a utilização das soluções), com o uso das soluções controle positivo (Clorexidina 0.12%), com o uso das soluções em teste em durante uma semana de uso e posteriormente seguindo exames clínicos trinta dias depois. Os resultados mostraram que as três substâncias testadas foram eficazes em reduzir de maneira estatisticamente significativa todos os quatro índices avaliados. (p<0,05). O grau de desconforto e possíveis efeitos colaterais das soluções foram avaliados através de um questionário. Os resultados mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa, em nível de 5%, no efeito de redução entre as três soluções testadas para estreptococos do grupo mutans. Foi observada também a redução do número de escores clínicos nas três semanas subsequentes ao uso das soluções com uso das soluções acima citadas. O maior grau de desconforto foi proporcionado pela solução hidro-etanólica de Neem a 20%. Os desconfortos relatados foram (em % do total de respostas): gosto ruim (clorexidina 15%, alecrim 20%, alho 100%), ardência (clorexidina 6%, alecrim 18%, Neem 82%), mau hálito (clorexidina 2%, alecrim 8%, Neem 88%) e náusea (clorexidina 0%, alecrim 0%, Neem 70%). Desta forma, foi possível concluir que, embora a solução de Neem tenha apresentado efeitos indesejáveis, esta solução bem como a de óleo essencial de alecrim pimenta podem ser utilizadas como alternativa a clorexidina.

PALAVRAS CHAVE: Clorexidina, Plantas Medicinais , Óleo Essencial

Summary

Buccal illnesses as the caries and the gingivitis if configure as one of the main problems of the public health in the whole world. Oral Microorganism, in particular the streptococcus mutans group, are related to the formation of bacterial biofilm and the recurrent illnesses of it. A reduction of the number of these microorganisms implies, therefore, in prevention and control of these illnesses. In this work three solutions had been tested: clorexidina hidro-etanólica 0.12% (positive control) and solutions of Neem (*Azadirachta Indica*) and watery from the essential oil of the Rosemary pepper (*lippia sidoiddes*) 1,0 %. Eighty and one voluntary healthy had been randomizados in three experimental groups in accordance with the solution in test. Clinical examinations for research and quantification of periodontais indices had been carried through in the three groups. Samples of saliva had been harvested, diluted and inoculated (50?l) in plates I contend Agar MSB. All the plates had been incubated in conditions of microaerofilic under atmosphere of 5% Co2 for 48 hours. After these procedures, had been gotten the basal values and compared with the values carried through after one week of mouths washing with the solutions it has tested being carried through a quantitative evaluation in these indices as well as in the numbers of units formers colonies of microorganisms of the group mutans, considering the initial values (without the use of the solutions), with the use of the solutions has controlled positive (Clorexidina 0,12%), with the use of the solutions in test in during one week of use and later following clinical examinations thirty days later. The results had shown that the three you substantiate tested had been efficient in reducing in statistically significant way all the four indices evaluated ($p < 0.05$). The degree of discomfort and possible collateral effect of the solutions had been evaluated through a questionnaire. The results had shown that it did not have statistically significant difference, in 5% level, in the reduction effect enter the three solutions tested for streptococcus of the group mutans. The reduction of the number was also observed of props up physicians in the three subsequent weeks to the use of the solutions with use of the solutions above cited. The biggest degree of discomfort was proportionate for the hidro-etanólica solution of Neem 20%. The told discomforts had been (in % of the total of answers): bad taste (clorexidina 15%, alecrim 20%, garlic 100%), heat (clorexidina 6%, rosemary 18%, Neem 82%), bad breath (clorexidina 2%, alecrim 8%, Neem 88%) and nausea (clorexidina 0%, alecrim 0%, Neem 70%). Of this form, it was possible to conclude that, even so the solution of Neem has presented effect undesirable, this solution as well as the one of essential oil of rosemary pepper can be used as alternative the clorexidina.

KEY-WORDS: Clorhexidine, Alecrim esencial Oil, Medicinal Plants.

Lista de tabelas

Tabela 1: Números do Estudo SB Brasil	34
Tabela 2: Numero médio de dentes na boca	36
Tabela 3: Variáveis correlacionadas com doença periodontal	38
Tabela 4: Valores de redução do Índice de placa bacteriana	49
Tabela 5: Valores de redução do Índice Gengival	54
Tabela 6: Valores de redução do Índice de Sangramento Gengival	55
Tabela 7: Valores de redução do Índice de S.mutans salivar	56

Lista de figuras

Figura 1: <i>visual analogue scale</i>	54
Figura 2: Método de coleta de saliva.....	58
Figura 3: Padronizacao da analise microbiologica.....	64
Figura 4: <i>visual analogue scale</i>	54

Figura 5: visual analogue scale.	54
Figura 6: visual analogue scale.	54
Figura 7: visual analogue scale.	54
Figura 8: visual analogue scale.	54
Figura 9: visual analogue scale.	54

Índice

1.1	Placa bacteriana, gengivite e cárie: conceitos básicos	20
	2. Objetivos.....	37
	3. Material e Métodos	38
3.1	Área de estudo.....	38
3.2	População do estudo.....	38
3.3	Desenho do estudo	39
	3.4 Critérios de Inclusão e Exclusão.....	39
	3.5 PROCEDIMENTOS	41
3.14	Avaliação Microbiológica	53
	3.13 EXAMES DE SEGUIMENTO	57
	3.14 Documentação de efeitos adversos e aceitabilidade	58
	Considerações éticas	61
	5. Discussão	73
5.1	Eficácia das Substâncias Testadas.....	73
5.2	O Efeito Hawthorne.....	80
5.3	Avaliação Clínica.....	80
5.4	Avaliação Microbiológica	82
	7. Referências	88

1. Introdução

As doenças dentais são reconhecidas como um dos principais problemas de saúde pública no mundo (ref.) A gengivite e a cárie dental apresentam uma elevada incidência e prevalência, além de provocarem impacto social pela interferência na qualidade de vida dos indivíduos

afetados [32]. Além disso, estudos demonstraram que doenças periodontais estão diretamente relacionadas ao aumento de doenças cardiovasculares [47] +reff..

1.1 Placa bacteriana, gengivite e cárie: conceitos básicos

Placa bacteriana e gengivite

As alterações qualitativas da placa bacteriana podem se manifestar no periodonto de proteção (gengivite) ou estender-se para o sistema (??) de sustentação (periodontites) [31]. A inflamação no periodonto compreende desde a mais suave gengivite marginal a periodontite, com extrema perda de inserção. O tipo mais comum de doença gengival é a inflamação causada pelo ataque de placa bacteriana à superfície do dente.

Os estudos clássicos sobre gengivite experimental realizados por Løe *et al.* (ANO!!) mostraram uma associação do acúmulo de placa e sua maturação com a gengivite; a remoção da placa e a interferência com a sua maturação resultaram na eliminação da gengivite [24,25].

Outro fator não menos importante é a condição sistêmica que pode agravar ou modificar a inflamação causada pela placa devendo ser tratada oportunamente. Entretanto nenhuma condição sistêmica por si só causa gengivite crônica [26].

A presença da placa bacteriana causa inflamação decorrente da produção de fatores irritantes como a calcificação da placa dental (deposição contínua de cristais de cálcio presente na saliva) vulgarmente conhecido como tártaro ou cálculo dental (Figura x---
renumerar todas as figuras!!), favorecendo o acúmulo de microrganismos em ambientes de difícil acesso na higiene oral diária [28].

A gengivite crônica simples (inflamação da gengiva) afeta tanto a gengiva interdental como a marginal [38]. Geralmente indolor, é a causa mais comum de sangramento gengival durante a escovação (Figura 3). Falhas no seu tratamento provocam a destruição dos tecidos periodontais subjacentes e a perda prematura do dente [18].

Embora a gengivite crônica não evolua para perda óssea, ela é muitas vezes o estágio inicial da periodontite e deve ser tratada antes do desenvolvimento das bolsas. Não há no momento um método disponível para prognosticar se a gengivite estacionará ou progredirá para periodontite que está associada com a perda óssea ao redor da unidade dental responsável pela sustentação do dente [12].

Figura 3: Gengivite Crônica Simples

Figura 4: título!!!

Cárie

Na cavidade oral humana convivem milhões de bactérias [25]. Desde os primórdios da humanidade, essas bactérias aderiram aos dentes formando placa dental. As bactérias bucais, particularmente o *Streptococcus mutans*, possuem enzimas que produzem substâncias pegajosas (polissacarídeos insolúveis) que facilitam a aderência das bactérias. A sacarose favorece a multiplicação bacteriana, levando a quedas mais acentuadas de pH na interface dente-placa.

A implicação clínica desta propriedade da sacarose está no fato de que sua presença pode tornar alimentos anticariogênicos em cariogênicos [5]. Tal fenômeno torna-se relevante

quando a sacarose passa a fazer parte de uma cultura dietética.

Na prática diária, é comum ouvir falar de cárie dental como "a cavidade no dente". Entretanto, a cavidade cariosa representa um sinal ou um sintoma da doença e como tal um reflexo tardio da mesma [64]. A doença da cárie é um processo dinâmico que ocorre nos depósitos microbianos (placa bacteriana nas superfícies do dente) e que resulta em distúrbio do equilíbrio entre o processo de trocas bioquímicas atualmente conhecido como "DES-RE" (Desmineralização-Remineralização) nas substâncias (ácidos) que atacam o dente e o fluido da placa adjacente. Com o decorrer do tempo, o resultado será a perda de mineral na superfície do dente [1,32,39,44].

Em linhas gerais esta patologia é caracterizada principalmente pela perda de minerais da estrutura dental, decorrente do ataque de ácidos provenientes dos produtos metabólicos das bactérias residentes na placa bacteriana aderida à estrutura do esmalte dental [6,15,33].

O único evento que exhibe relação direta com o aparecimento de lesões cariosas é a presença e a permanência de uma placa cariogênica cobrindo a região afetada [10]. Entretanto, outros fatores, que têm o potencial de desempenhar um papel modulador na atividade do processo, podem levar a um aumento ou uma diminuição do desafio cariogênico. Entre eles incluem-se os carboidratos da dieta, especialmente a sacarose, os componentes salivares e a presença de substâncias químicas preventivas como a adição de flúor na água de abastecimento, uso tópico de substâncias antimicrobianas e a dieta [5]. Substâncias como o timol, carvacrol e o óleo de cravo demonstraram em estudos *in vitro* uma clara inibição do crescimento de estreptococos cariogênicos [7] e substâncias como a clorexidina, cloreto de cetilpiridínio e o timol (dar os nomes comerciais em parênteses, somente tem um dentista na banca!) são comercializadas para uso na redução da placa bacteriana, gengivite e subsequentemente da cárie [1,3,4,10].

1.2 Epidemiologia das Doenças Bucais

A doença periodontal sofreu várias releituras durante as últimas décadas, em face dos avanços no campo da epidemiologia e mudanças dos enfoques conceituais e metodológicos. Dessa forma, obtiveram-se informações que estão contribuindo para a compreensão dessa infecção e os determinantes de sua extensão social e individual, como problema de saúde-doença bucal [58].

Trabalhos recentes têm demonstrado a existência de uma importante elevação nos níveis de saúde bucal em vários países em indivíduos com idade até doze anos, sobretudo nas pessoas mais jovens [6,8,9,11]. Outros estudos confirmaram a ocorrência de um consistente declínio (ou *aumento*??) na prevalência e na incidência de lesões cariosas entre crianças e adolescentes nos últimos 25 anos (Figura 1??).

Figura 2: título!!!

Figura 1: título!!! Fig. 01

Existem indicações epidemiológicas da alta prevalência das gengivites, contudo, nas diversas populações analisadas (QUAIS???), apenas cerca de 10% dos indivíduos desenvolvem doença, periodontal avançada. [43].

Baelum et al. avaliaram a saúde periodontal em mais do que 1000 indivíduos entre 15 a 65 anos em Quênia. A higiene oral encontrada foi deficiente e 75% a 95% das superfícies examinadas possuíam placa. As superfícies com cálculo aumentavam consideravelmente com a idade de 10% a 20% (15 a 24 anos) para 70% a 85% (55 a 65 anos).

Marco Antonio, faltam uns dados de prevalência do mundo de comunidades carentes (e de não carentes) Coloque uns 10 a 15 estudos recentes sem entrar em detalhe de cada estudo.

A doença periodontal possui uma etiologia multifatorial. Vários fatores de risco potenciais para a doença periodontal têm identificados, tais como sexo masculino, origem negra, idade avançada, baixas condições sócio-econômicas ou educacionais, diabetes e fumo [43;34;34;78].

O fator sócio-econômico tem sido considerado atualmente como de fundamental importância na determinação das doenças periodontais [21]. Um estudo recente(?) realizado em nnnn? Indicou que a influência de uma infância em ambiente de nível sócio-econômico baixo está associada a um status de saúde bucal pior nos adultos se for comparado com pessoas que passaram a infância em alto nível sócio-econômico (ESSE ESTUDO PRESTA???). A prevalência de doença periodontal e de cárie estava significativamente elevada em pessoas que cresceram em famílias com baixo poder aquisitivo [77].

A situação sócio-econômica determina também o acesso aos serviços com conseqüências para a saúde; foi observado estabilização ou agravamento do quadro diagnosticado inicialmente em pacientes que trataram ou não trataram a doença periodontal, respectivamente.[20;45]

1.3 A situação das doenças bucais no Brasil

No Brasil, o dado nacional mais completo foi obtido mediante um levantamento populacional da saúde bucal, no qual foi possível dimensionar a prevalência da doença periodontal na população brasileira com mais de 15 anos de idade, residente em região urbana. Foram incluídos 250 municípios das cinco regiões do Brasil. *Foram examinados em total quantas pessoas????* Os exames foram feitos em escolas, creches e domicílios a partir da atuação de equipes compostas por pelo menos um dentista e um auxiliar anotador, entre maio de 2002 e outubro de 2003.

Esse levantamento foi denominado “projeto SB Brasil” e correspondeu à mais ampla e completa pesquisa sobre o tema realizada em todo o país (Tabela 1). O quadro epidemiológico observado mostrou-se menos grave do que o esperado, fato explicado não pela melhor saúde, mas pelo alto número de desdentados (49,7%, aos 50-59 anos) (REF.).

Tabela 1: Indicadores obtidos no projeto SB Brasil em 2003 e as metas da OMS/FDI para o ano 2000.

FORMATO DA TABELA!!!!

B	% de crianças sem história de cárie (GII)	CPO nas crianças (GIII)	% de adolescentes com todos os dentes em boca (GIV)	% de adultos com 20 ou mais dentes em boca (GV)	% de idosos com 20 ou mais dentes em boca (GVI)
Meta	50	Menor que 3	80	75	50
OMS/FDI					
BRASIL	40,6	2,8	55,1	53,9	10,2
Norte	35,0	3,1	39,1	46,3	8,6
Nordeste	34,9	3,2	45,1	50,0	11,1
Sudeste	44,9	2,3	66,5	62,3	9,3
Sul	43,3	2,3	66,5	55,1	10,4
Centro-Oeste	41,7	3,1	65,7	58,4	11,2

Fonte: Brasil 2004:Projeto SB Brasil - Ministério da Saúde do Brasil

Apenas 55% dos indivíduos dos adolescentes até 18 anos, possuíam todos os dentes em boca. Dos adultos, 28% não possuíam nenhum dente funcional em pelo menos uma arcada. Outro dado interessante salienta que mais de 15 % dos adultos necessitam de prótese total em pelo menos uma das arcadas. Entre os idosos acima de xxx anos, foi identificado uma média

aproximada de 26 dentes extraídos por pessoa, sendo que 3 em cada 4 idosos não possuíam nenhum dente funcional.

Menos de 22% da população adulta e menos de 8% dos idosos apresentaram saúde periodontal. O estudo mostra que 2,5 milhões de adolescentes (13% da população) nunca foi ao dentista. Entre a população adulta, 3% nunca esteve em um consultório dentário, sendo que entre os idosos este número subiu para 6%.

A região nordeste apresentou a maior concentração de pessoas sem acesso a odontologia e a região sul foi a mais bem avaliada nesse quesito.

No Ceará trabalhos prévios forneceram dados primários apenas de populações infantil [72] e idosa [31], permanecendo uma lacuna de informações a cerca de como se comporta a população na faixa etária entre 18 a 65 anos, idade mais atingida com tal patologia.[80].

No Brasil a atividade de cárie na faixa etária dos 30 aos 50 anos mostra claramente a ausência dos cuidados primários bem como métodos preventivos eficazes e de programas para o controle das doenças bucais (Figura 2??) [65]. Além disso, a população sócio-economicamente menos favorecida fica dependente do sistema público que não atende a demanda [34].

No Brasil a gengivite simples afeta cerca de 76% da população adulta em decorrência da presença da placa bacteriana bem como de outros fatores irritantes locais que promovem o aparecimento de tais sinais clínicos [34].

----existem mais estudos (seja populacional ou não) do Brasil!!! Porocurar e citar!!!

1.4 O uso das Plantas Medicinais na Saúde Bucal

Medidas de higiene oral baseada em produtos naturais são praticadas por populações e culturas diferentes em torno do mundo desde a antiguidade (reff.). Registros arqueológicos demonstram que hábitos tradicionais, como os de mastigar pequenos galhos, foram usados pelos babilônios há 7000 anos (ref.). Tal prática também foi exercida durante os impérios gregos e romanos e foi usado mais tarde por Judeus, egípcios e muçulmanos [56].

Segundo a OMS, 80% da população mundial usa a medicina popular, principalmente através do uso de plantas medicinais, para suprir as necessidades de assistência médica primária. Cerca de 74% das 119 drogas desenvolvidas a partir de plantas até 1985, foram obtidas através de estudos que avaliavam o uso popular de espécies bem conhecidas [87].

Principalmente na África, Ásia, Mediterrânea Oriental e América do Sul são utilizados árvores, pequenos arbustos, galhos e raízes de plantas esponjosas facilmente esmagadas entre os dentes para o controle da placa bacteriana.[5]+mais reff., por exemplo aquele do México e da Índia etc.

---falar das substâncias que são usados e que tem a eficácia comprovada seja em vitro ou em vivo!!!! Coloque toda a literatura que você acha!!! Por exemplo cranberries, aquele do México etc.

No Sudão foi observado que pessoas que usavam o galho do Miswak (EXPLICAR nome) tinham pouca cárie quando comparado com aqueles que usavam escovas de dente. [18]. A quantidade substancial de silicone detectada em cinzas da planta *salvatora persica* do miswak foi sugerida para contribuir para a limpeza mecânica na ação da remoção da placa[22].

A mastigação de galhos de JJJJ??? para a higiene oral usado no Zimbábue foi mostrado ser eficaz na redução da cárie [22].

Em várias regiões do Brasil produtos naturais são usados para a higiene bucal. Por exemplo, no interior do Ceará populações utilizam a entrecasca do Juá (*Ziziphus joazeiro*) para a sua prática de higiene, tendo em vista o seu rico teor em saponinas [46].

Os efeitos terapêuticos e profiláticos de mastigar galhos podem ser devido à limpeza mecânica, a liberação potencial de produtos químicos biológicos ativos quando usados, e/ou uma combinação de ambos.

Os estudos atuais disponíveis faltam detalhes específicos a respeito do tempo, duração, e a frequência de seu uso que impede avaliações significativas do efeito de limpeza mecânica do Juá e do Miswak na saúde bucal [23]. O galho que é deixado freqüentemente na boca por algum tempo, a salivação aumentada pode também promover uma melhor limpeza e a manutenção de uma higiene oral.

Alecrim pimenta (*Lippia sidoides*)

O gênero *Lippia* (Verbenaceae) tem fornecido um grande número de espécies que são usadas freqüentemente na medicina brasileira. A *Lippia sidoides* é um arbusto, encontrado no semi-árido sertão nordestino, principalmente nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. A ocorrência comum é na caatinga entre Mossoró (RN) e Tabuleiro do Norte (Ce). O arbusto é conhecido vulgarmente como "alecrim-pimenta" ou "estrepá cavalo".

O alecrim pimenta é uma planta aromática, de uso medicinal popular. Seu óleo essencial, rico em timol e carvacrol, apresentou propriedades bactericida e fungicida. Em virtude destas propriedades, este vegetal é cultivado em hortos de plantas medicinais e faz parte do elenco de plantas selecionadas pelo Governo do Estado, como fitoterápico.

Muito utilizada na medicina popular como anti-séptico geral o alecrim (*L. sidoides* Cham), é uma planta de uso tópico na pele, boca, nariz e garganta, infecções intestinais e como vermífugo, principalmente contra Platelminthos. Atualmente o extrato hidroetanólico do

alecrim pimenta é usado em diversas prefeituras do interior do estado para os mais diversos fins não tendo sido observados relatos de efeitos adversos nos postos de saúde (REF) (DETALHAR OS FINS!!).

Isto respaldado por resultados obtidos de vários ensaios farmacológicos que vieram validar cientificamente seu uso como agente anti-infecciosos. Onde o uso do mesmo ainda não ocasionou nenhum efeito colateral ou mesmo de irritações ou processos de hipersensibilidade. (REFFF!!!!)

O estudo fitoquímico das partes aéreas de *L. sidoides*, levou ao isolamento de vários constituintes químicos pertencentes a diferentes classes de compostos químicos sendo um triterpeno (1), seis quinonas (3,4,5,6,7,11), quatro flavonóides (8,9,10,12), um derivado do ácido benzóico (2) e uma lignana (13) identificados como: acetato do ácido oleanólico 1, metil-3,4-diidroxibenzoato 2, lapachenol 3, tecomaquinona 4, tectoquinona 5, tectol 6, tectol acetilado 7, quercetina 8, luteolina 9, glucoluteolina 10, lippisidoquinona 11, taxifolina 12 e isolariciresinol 13, representados na figura 5. Vale salientar que os constituintes majoritários presentes no extrato etanólico são as quinonas e os flavonóides.

Feito a partir do óleo essencial do alecrim pimenta, o “Cepakill” é um anti-séptico bucal à base do óleo essencial da *Lippia sidoides* (alecrim-pimenta) e foi elaborado pelo setor de Farmacotécnica da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Ceará com o objetivo de realizar ensaios clínicos de pesquisas na Faculdade de Odontologia objetivando a sua validade clínica em programas alternativos na prevenção da cárie dental.

O enxagüatório bucal apresenta excelentes propriedades anti-cariogênicas, efetivo contra os principais sorotipos de estreptococos acidogênicos responsáveis pelo início do processo de cárie dental e de gengivite.[10]

A partir da primeira investigação *in vitro* contra bactérias orais, o óleo essencial se mostrou efetivo na inibição do crescimento das principais bactérias cariogênicas. Em outros

estudos em voluntários sadios mostraram a validade clínica do uso deste anti-séptico em humanos. A solução se mostrou altamente segura para uso em humanos [manasses].

Um estudo pequeno realizado em uma instituição militar em Fortaleza indicou que o anti-séptico bucal é altamente eficaz na redução da placa bacteriana e sangramento gengival. A redução de gengivite bacteriana e placa dental foi da ordem de 6 a 12% respectivamente [17]. Porém o referido estudo não permite a concluir sobre a eficácia tendo em vista a ausência de testes estatísticos analíticos adequados bem como a característica do estudo do tipo piloto sem grupo de controle (VERDADEIRO?).

Em um estudo com animais da raça pastor alemão Girão et al. (ANO) demonstraram um potente efeito inibidor deste anti-séptico bucal na prevenção da gengivite nestes animais [19].

Nos estudos acima citados, o anti-séptico desenvolvido não mostrou efeitos colaterais consideráveis e foi muito bem aceito pela comunidade.

Outras loções à base de óleo de alecrim são usadas com sucesso como sabonetes e xampus anti-caspa comercializados em escala piloto pelos programas do Governo do Estado do Ceará nos CENTEC'S (Centros Técnicos) E CVT'S (Centro Vocacionais) do interior do estado que indicam sua seu uso para população local contra vários tipos de bactérias residentes em mucosas bem como na epiderme.

Conforme Matos (ANO), o óleo essencial de alecrim-pimenta é muito rico em timol e carvacrol, sendo um dos melhores anti-sépticos naturais [32.]. Na indústria farmacêutica, por exemplo, o óleo é utilizado em remédios destinados a combater pano branco, caspa, espinha, sarna, impingem, ferimentos, mau cheiro nos pés e axilas[21].

Também é um conservante natural e funciona como excelente anti-oxidante. Além do efeito anti-séptico, o alecrim é um arbusto rasteiro que nasce no sertão sem ser semeado está se transformando em uma planta promissora com pontenciais aplicações nos mais diversos campos do conhecimento. [telma].

Estudos recentes indicam um poder inseticida contra o mosquito transmissor da dengue e que o mesmo possa ajudar no combate ao dengue e ao mal de Chagas [13].

É provável que esse efeito inseticida também funcione contra os ácaros que causam a escabiose bem como contra fungos do trato gênito urinário feminino a exemplo do gel de aroeira.

A Árvore Neem (*Azadirachta indica*)

--short intro sobre neem em geral com foto (árvore e folhas/sementes)

O primeiro uso de neem conhecido foi há 4500 anos pela cultura de *Harrappa* na antiga Índia oriental. Produtos compostos de extratos de Neem (*Azadirachta indica*) são tradicionalmente utilizados na Índia com vários fins medicinais e cosméticos. .

As qualidades medicinais de neem são descritas nas primeiras obras em sânscrito, que recomenda o uso de neem para tratamento de doenças bacterianas, fúngicas e virais. A medicina Ayurveda, com tradição de centenas de anos, usa a árvore de neem como um dos ingredientes principais de sua farmácia [14].

A árvore de neem tem um espectro mais abrangente de uso do que qualquer outro produto natural. Hoje, extratos da árvore são usados contra várias doenças de pele, como anti-sépticos, contra endo e ectoparasitas, ou simplesmente como condicionador de cabelo [20].

O Neem tem sido usado na Índia e no sul da Ásia por milhares de anos como a ferramenta preferida para manter os dentes e gengivas saudáveis. Escovar com galhos do neem e mastigar suas folhas e sementes após uma refeição se constituem como prática tradicional do cuidado dental nesta área.[3;14]

Com preparações modernas disponíveis muitas pessoas estão usando agora os produtos comerciais que contêm os mesmos componentes básicos do neem. A atividade antibacteriana do neem foi avaliada e conhecida desde as épocas antigas [20].

Considerado ter outras atividades como adstringente, anti-séptico, inseticida, anti-úlceras e para limpeza dos dentes assim como em outras doenças dentais. À exceção da folha o extrato do Neem mostrou a atividade anti-viral e anti-hiperglicêmica superior *in vitro* e em animais [19;79]. As suas folhas tem sido usadas no tratamento da gengivite e do periodontite [52].

Em um estudo recente para determinar se o uso do Neem afeta a proporção dos estreptococos atuais na superfície do dente, 30 voluntários foram instruídos para usar o Neem duas vezes por dia comercialmente preparado por 14 dias como um adjunto à sua prática oral normal da higiene. Encontrou-se que seis dos participantes (20%) experimentaram uma diminuição na proporção de estreptococos mutans totais de mais de duas vezes o valor que foi restaurado depois que cessou o uso do Neem.

Neem mostrou também uma melhor eficácia no tratamento de infecções e da inibição oral do crescimento da placa bacteriana no tratamento de periodontopatias [80]. Também mostrou uma boa atividade anti-bacteriana da escala larga *in vitro* [88].

Além da experiência tradicional, estudos científicos mostram que preparações das sementes da árvore de neem são comparáveis na sua eficácia com substâncias químicas sintéticas [19]. Estudos mostraram que o anti-séptico bucal a base de extratos de neem tem efeito anticariogênico. [3;52]

O clima propício do nordeste brasileiro e a facilidade de produção do óleo da árvore de neem constituem uma interessante base para elaborar e avaliar medidas de controle da cárie dental e de processos inflamatórios na gengiva de baixo custo e culturalmente aceitos em comunidades carentes no nosso meio direcionado às populações de baixa renda as quais não tem acesso direto aos postos de saúde que direcionam suas ações curativas ao atendimento odontológico. Investigações sobre a toxicidade mostraram que os ingredientes do neem são seguros para o ser humano e animais [78].

----CITAR MAIS ESTUDOS SOBRE O USO DE NEEM E TOXICIDADE

A Clorexidina

Vários agentes antimicrobianos e antiplaca foram e estão sendo comercializados na forma de soluções para higiene oral e dentifrício, sendo utilizados com outros procedimentos de higiene oral para modificar a composição bacteriana da placa dentária. Entretanto, a maioria deles possui pouca ou nenhuma eficácia.[99]

Exceções a esta regra são as bisguanidas, particularmente a clorexidina, que foi lançada como desinfetante geral usado na limpeza e desinfetante em banheiros públicos em 1954. O efeito antiplaca da clorexidina é conhecido há mais de 20 anos [2,3,4].

Os anti-sépticos costumam ser divididos principalmente em três tipos: a base de gluconato de clorexidina (Periogard[®] - Colgate-Palmolive); óleos essenciais (Listerine[®]); e cloreto de cetilpiridínio (Cepacol[®]). Anti-sépticos têm ações contra bactéria através de diferentes mecanismos de ação. Muitos contêm, além do princípio ativo, uma certa concentração de álcool, que chega até 21%, dependendo do enxagüatório.

Atualmente a clorexidina a 0,12% é comercializado no Brasil com o nome de Periogard[®] prescrito por dentistas podendo ser utilizada profilaticamente e como agente terapêutico em pessoas com cáries ativas e previamente a procedimentos odontológicos[8].

A clorexidina liga-se às mucosas e superfícies do dente e posteriormente é liberada de forma lenta, em concentrações bacteriostáticas, durante várias horas. Em níveis bacteriostáticos interfere na função da membrana bacteriana, incluindo o transporte básico e a manutenção dos gradientes de íons. Pode ser utilizada eficazmente na terapia das cáries, para reduzir especificamente o número de *S. mutans* na placa e na saliva geralmente, a supressão destes microrganismos é seguida pelo controle das cáries [11].

As bactérias orais sensíveis não se adaptam para resistência à clorexidina. Isto sugere que ela é o único agente microbiano que pode ser usado em um médio prazo na terapia anti-cárie.

Entretanto cabe lembrar que algumas alterações que ocorrem na estrutura dental como manchas assim como alterações na microbiota da placa durante o tratamento em longo prazo com clorexidina, as quais em geral não persistem após a interrupção do uso da droga [14].

A clorexidina tem mostrado efeito bactericida contra cepas gram positivas e negativas, fungos e leveduras, aeróbicas facultativas e anaeróbicas (24). Apesar de ser um agente antimicrobiano de largo espectro, os estreptococos do grupo *mutans* são mais fortemente afetados que os outros membros da microbiota oral [74].

A concentração mínima das soluções à base de clorexidina que produz inibição bacteriana é 0,12%. Concentrações inferiores falham em reduzir a contagem de mutans na saliva [19].

Uma hora após um bochecho de 30 segundos com clorexidina a 0,1% o número de microrganismos viáveis no biofilme bacteriano é reduzido em 22 a 40%; entre 6 e 8 horas o número de microrganismos volta aos patamares originais [63]. Outros estudos mostraram redução significativa (mais de 10 vezes o número inicial) de *S. mutans*, em pacientes idosos submetidos a bochechos únicos diários de clorexidina a 0,12%. A utilização de um bochecho diário poderia ser suficiente para promover baixos níveis de microrganismos dentro da cavidade oral [19].

Após 3 dias de bochechos diários com clorexidina 0,2% foi observado que houve redução de mais de 99,99% das células viáveis com relação ao controle, sendo que o composto fenólico Listerine® produziu redução de 97%. O número de bactérias totais foi 99% e 80% menor, com relação ao controle, para a clorexidina e Listerine®, respectivamente [64].

O uso clínico da clorexidina pode ocasionar efeitos colaterais [42]. O manchamento dentário é bem documentado e, provavelmente, o mais problemático efeito adverso do uso destes produtos orais [2]. Não há dúvidas que estes anti-sépticos catiônicos podem precipitar ou ligar-se a superfícies aniônicas cromogênicas contidas em alimentos e bebidas, que podem provocar ou aumentar as manchas. [49;55]

Outros efeitos colaterais, como gosto desagradável e alterações de paladar ou até mesmo a inflamação gengival, apresentam-se como desconfortos também relatados [13].

Embora o efeito antibacteriano do gluconato do clorexidina seja geralmente reconhecido, a modalidade do tratamento e o sistema de liberação da droga para a eficácia máxima não estão ainda completamente esclarecidos. Evidentemente doses terapêuticas do agente devem ser acessíveis às superfícies dos dentes nos quais habita uma microflora cariogênica estabelecida para um dado período suficiente de tempo [60].

1.5 Justificativa

As doenças periodontais atualmente são interpretadas a partir de um novo olhar, sendo vistas como um fenômeno das "civilizações modernas", predominantemente urbanas (ref!). Estas são influenciadas por fatores do meio ambiente e sócio-comportamentais, como a alimentação, stress, dentre outras condições [37].

Cerca de 70% da população mundial em vários níveis sócio-econômicos já tenha apresentado sinais e sintomas de gengivite, assim como problemas de ordem estética funcional e distúrbios psico-sociais advindos destas.[37]. Estudos recentes sugerem que estas infecções crônicas de baixa intensidade localizadas como a gengivite, contribuem para doenças cardíacas. Foi demonstrado que a taxa de cardiopatias foi aumentada drasticamente para aqueles pacientes que sofrem de periodontite crônica.[46]

Doenças peridontais são um importante problema de saúde pública no mundo inteiro, especialmente em populações de baixo poder aquisitivo. Essas populações, porém, tem baixa acessibilidade aos serviços de odontologia, sejam preventivos sejam curativos. Nesse contexto, uma substância natural culturalmente aceitável e de baixo custo que previne doença periodontal é de grande valor para as populações afetadas.

A comunidade científica até bem pouco tempo não direcionava a devida atenção para o controle e tratamento das doenças periodontais a partir de plantas medicinais.

Tendo em vista o alto custo dos procedimentos odontológicos e a pequena cobertura da demanda atendida realizada pelos programas de saúde da família no aspecto curativo, novos métodos e técnicas preventivas baseadas em produtos naturais tem sido propostos pela comunidade científica nacional e internacional.[3;12,53;98]

O uso de uma substância natural de baixo custo e culturalmente aceita que tenha uma boa efetividade na controle de gengivite e placa bacteriana seria de grande benefício principalmente para as populações de baixo poder aquisitivo.

2. Objetivos

2. Objetivo Geral

Avaliar a eficácia de dois anti-sépticos bucais elaborados a partir de extratos do alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) e do Neem (*Azadirachta indica*) na redução da gengivite e cárie dental em um ensaio clínico controlado randomizado;

2.1 Objetivos Específicos

- Avaliar as condições periodontais (gengivite) da população em estudo através da quantificação de índices;
- Determinar as variações na quantidade de bactérias cariogênicas (*S. mutans*) por ml de saliva de cada paciente através da quantificação de Unidades formadoras de colônias antes e após os bochechos com as substâncias testadas.
- Descrever a eficácia de bochechos com os anti-sépticos bucais a base de extratos das plantas *Lippia sidoides Cham* (Alecrim-Pimenta) e da *Azadirachta indica* (Neem) no controle da placa bacteriana e gengivite;
- Avaliar o gosto e aceitabilidade e os efeitos advindos das substâncias testadas;

3. Material e Métodos

3.1 Área de estudo

O estudo foi realizado na comunidade Serviluz / Vicente Pinzón II, uma favela típica em Fortaleza, capital do Estado do Ceará. A área é localizada na Praia do Futuro à beira-mar, onde migrantes pobres do interior do Estado começaram a habitar as dunas no início dos anos 50.

Segundo dados do cadastro do Programa de Saúde da Família, a área tem uma população total de 20.000 pessoas: 97% das famílias têm energia elétrica, 70% têm acesso a água encanada e 60% têm renda familiar inferior a dois salários mínimos. A taxa de analfabetismo em adultos é 30%. [45]

Na área de estudo as doenças orais são hiperendêmicas, e a prevalência da cárie e gengivite é da ordem de 63% e 49%, respectivamente. Em números gerais cerca de aproximadamente 78% da população encontra-se acometida por alguma doença bucal [67].

3.2 População do estudo

Foram selecionados a participar do estudo 81 indivíduos com a idade variando entre 18 e 65 anos da comunidade da Favela do Serviluz (n=46) e das localidades vizinhas (n=35). A população-alvo foi identificada através do contato com líderes comunitários locais. Com essa medida objetivou-se maximizar a participação das pessoas que estavam com um alto índice CPOD. As localidades incluídas neste estudo foram consideradas como representativas para as demais localidades da área em estudo por apresentarem características demográficas, sócio-econômicas e de acesso ao sistema de saúde semelhante, segundo dados do cadastro do PSF.[67]

3.3 Desenho do estudo

Foi realizado um ensaio clínico controlado randomizado sobre a eficácia terapêutica dos anti-sépticos bucais naturais à base do Neem e do Alecrim pimenta para o controle e tratamento da cárie dental e gengivite. Como controle foi utilizado o anti-séptico comercial a base de clorexidina a 0,12%, tratamento considerado padrão-ouro[26]. O investigador, o paciente e o microbiologista eram cegos a respeito do tratamento alocado.

Os participantes do estudo foram examinados clinicamente antes e 7 e 30 dias após o primeiro dia de tratamento.

3.4 Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram incluídos no estudo habitantes da área com a faixa etária variando entre 18 - 60 anos que apresentem cárie ou gengivite avançada. Os pacientes foram identificados com a ajuda dos líderes comunitários. (figura 01)



(figura 01): Seleção de Pacientes

- Critérios de Inclusão

Foram incluídos indivíduos entre 18 e 60 anos com pelo menos 10 dentes restantes e pelo menos um dos seguintes sinais clínicos:

a. CPOD:

Indivíduos com o índice **CPO-D** de pelo menos 13,9. Esse número é considerado pela OMS como padrão para cárie dental avançada [20].

A Organização Mundial da Saúde (**OMS**) estabeleceu em 1982 um índice aceito internacionalmente que visa medir de forma acurada a saúde bucal de populações para tanto instituiu o Índice Periodontal Comunitário que mede a saúde dos dentes de determinada população[1].

b. Gengivite:

Indivíduos com índice gengival (**IG**)= de 1 a 2,0 de acordo com (LÖE & SILNESS, 1963); Indivíduos com História clínica de Sangramento gengival ou a presença de sangue durante a escovação. O índice gengival mede a saúde da gengiva de indivíduos através de uma escala numérica onde um número é atribuído a cada um dos 4 sítios do dente[24].

- Critérios de Exclusão

Os critérios de exclusão foram mulheres grávidas ou em amamentação, pessoas com idade menor de 18 anos e maiores de 50 como também indivíduos com doença sistêmica grave, alcoolismo crônico, doença mental. Indivíduos que possuam unidades dentárias índices com mais de 2/3 destruídos por lesão cariada assim como aqueles que não assinam consento escrito pós-informação não participaram do estudo.

3.5 PROCEDIMENTOS

Após aplicação de um questionário semi-estruturado pré-testado a respeito de dados demográficos, sócio-econômicos e de hábitos relacionados com as doenças em questão, os pacientes foram examinados clinicamente a respeito da presença de placa bacteriana, cárie e gengivite.

Foram aplicados os seguintes procedimentos em todos os participantes do estudo:

a. Aplicação de questionário semi-estruturado

Os participantes do estudo foram interrogados a respeito de hábitos alimentares, fumo, frequência e tipo de higiene oral.

O gosto foi avaliada usando um *visual analogue scale* (Figura 01).



Figura 08: avaliação do sabor das substâncias (*visual analogue scale*) para avaliação do sabor

b. placa bacteriana

Os dentes foram cuidadosamente sondados com exploradores No. 17 ou 3A para localizar pequenas acúmulos de placa. Sendo atribuído um escore ordinal de 0 a 3 quantificando o acúmulo da placa bacteriana (**IP**):

0 = Nenhuma placa na área gengival.

1 = Nenhuma película, inflamação leve, pequena alteração na cor, pouco edema; nenhum sangramento a palpação.

2 = inflamação moderada, rubor, edema; nenhum sangramento à palpação.

3 = inflamação grave, rubor intenso e edema, ulcerações; tendência a sangramento espontâneo.

c. gengivite

Em um primeiro momento, o paciente foi interrogado sobre a presença de sangramento gengival ao escovar os dentes. Em um segundo momento, um pesquisador examinava o periodonto à procura de inflamação gengival e perda de aderência da gengiva à estrutura dental.

Como demonstrando nas figuras abaixo

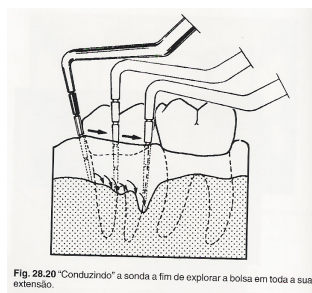


Fig.02 Vista Lateral da Sondagem

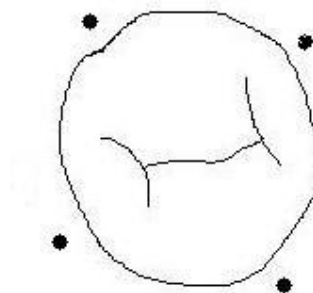


Fig.03 Vista superior das

regiões sondadas

Os dentes selecionados para o diagnóstico de placa bacteriana foram cuidadosamente sondados com exploradores No. 17 ou 3A para localizar pequenas partículas de cálculo. Depois, a gengiva será inspecionada com uma sonda periodontal milimetrada para a determinação do índice de sangramento gengival.

Foi aplicado um escore ordinal para descrição quantitativa de gengivite:

0 = Gengiva normal

1 = inflamação leve, pequena alteração na cor, pouco edema; nenhum sangramento a palpação

2 = inflamação moderada, rubor, edema; nenhum sangramento à palpação

3 = inflamação grave, rubor intenso e edema, ulcerações; tendência a sangramento espontâneo

Além dos procedimentos acima descritos, foi realizado foto-documentação do quadro clínico em pacientes selecionados antes e após tratamento. (ver anexos)

3.6 Tamanho da amostra

Para detectar uma diminuição da média do escore de índice gengival em um grupo de 2,5 a 1,5 com poder de 90% e α de 95% foi necessário um tamanho de amostra de 24 participantes por grupo. Levando em consideração uma margem de segurança e possível perda de seguimento, foram incluídos 27 indivíduos em cada grupo, perfazendo um total de 81 participantes do estudo.

3.7 Randomização e tratamento

Os participantes do estudo foram alocados para o tratamento pela randomização em blocos de seis cada. O paciente e os investigadores foram mascarados a respeito do tratamento alocado. Serão formados três grupos de tratamento:

- a. Grupo 1: bochechos com o antisséptico de Alecrim-pimenta
- b. Grupo 2: bochechos com o antisséptico do Neem
- c. Grupo 3: bochechos com clorexidina 0,12% (como controle positivo)

Os pacientes serão instruídos a cerca dos cuidados que deverão ter durante os bochechos sendo avisados apenas para bochechar e as substâncias durante 30 segundos e depois expelir a mesma.

Os indivíduos foram tratados com antissépticos do Neem, Alecrim pimenta e clorexidina (bochecho duas vezes ao dia durante 1 minuto em um período de 07 dias).

3.8 CAUSUÍSTICA E MÉTODOS

3.8.1 Seleção dos voluntários

Conforme definido na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, esta pesquisa foi submetida ao Comitê de ética da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (COMEPE - UFC) e só foi realizada após aprovação pelo mesmo (número do protocolo 551/2004 - Anexo 01).

Cada voluntário recebeu um termo de consentimento (Anexo 02) onde constavam todos os detalhes do projeto de pesquisa. Somente após a anuência do voluntário, através da assinatura do termo, sem qualquer espécie de coação e com o esclarecimento de possíveis dúvidas, este foi considerado como participante da pesquisa.

Foram utilizados 81 (oitenta e um) indivíduos selecionados através de anamnese e exame clínico com as seguintes características:

1. Adultos na faixa etária entre 18 e 60 anos;
2. Saudáveis, isto é, sem apresentar patologias sistêmicas, que poderiam impedir a utilização das substâncias em estudo;

3. Não poderiam ter feito uso de nenhum enxaguatório bucal ou substância antimicrobiana, há pelo menos duas semanas antes do início do estudo;

4. Com o histórico onde haviam relatado sangramento gengival ou presença de sangue na escova dental durante a escovação;

5. Sem histórico de alergia ou outros problemas decorrentes do uso de qualquer um dos componentes de quaisquer das soluções que seriam utilizadas.

3.8.2 Anamnese

Os pacientes selecionados para o estudo foram submetidos a um exame através da coleta de sua saliva onde a partir desta será determinado seu risco de cáries através da quantificação de *S.mutans* por ml de saliva conforme preconizado por KHOLER & BRATAHALL, (1978) posteriormente foram examinados clinicamente no intuito de determinar seu status periodontal sendo avaliado os índices de placa, de gengiva e de sangramento conforme descrito por (LÖE & SILNESS, 1963) sendo posteriormente seus dados transferidos para uma ficha clínica que indicava seu status periodontal antes do uso das substâncias.

3.8.3 Exame Clínico

O exame clínico foi realizado por um único examinador treinado(profissional. Utilizando uma sonda milimetrada, sendo examinados e registrados os valores correspondentes a cada dente do referido arco em cada uma das 4 regiões : **disto-vestibular, mesio vestibular, centro-vestibular e lingual.**

Foram registrados os seguintes índices:

1. **Índice Gengival** (Løe & Silness, 1963)
2. **Índice de Placa Bacteriana** (Silness & Løe, 1964)
3. **Índice de Sangramento Gengival** (Ainamo & Bay, 1975)
4. **Índice de S.mutans por ml de saliva** (Kölher & Bratahall, 1978)

3.9 Exame microbiológico - Meio de cultura

Para a determinação da contagem parcial de estreptococos do grupo *mutans* foram utilizadas placas 5x2 contendo 10 ml de Meio de Cultura Ágar (ACUMEDIA) MSB (ágar Mitis Salivarius com Bacitracina 3,3mg por litro, 20% de sacarose e telurito de potássio a 1%), que é o meio seletivo para estreptococos do grupo mutans (KHOLER & BRATTHALL, 1979).

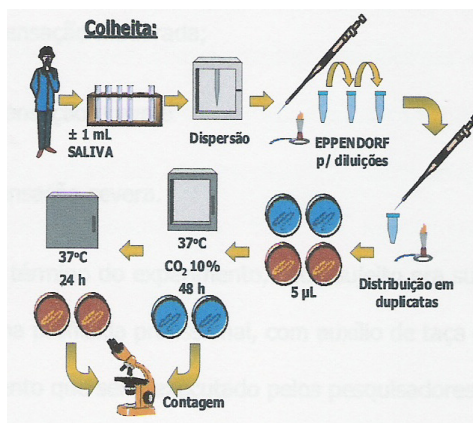




Fig.03: Atividades de Identificação Microbiológica por pesquisador cego.

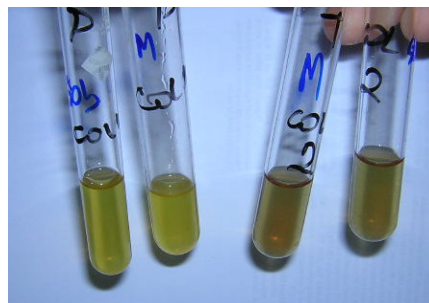


Fig.04: Provas Bioquímica s. mutans ..pesquisador cego.

Para cada diluição, 1:100 μ l obtida através das amostras coletadas, foram feitas duplicatas, isto é, cada diluição era semeada em duas placas petri placas contendo ágar MSB.

Para o exame microbiológico foi selecionado o método descrito por KHOLER & BRATAHALL, 1979, onde se determina o risco de cáries pela determinação do número de bactérias por ml na saliva estimulada antes e após uma semana do uso das substâncias.

Para a coleta o paciente será instruído a mastigar um pedaço de algodão estéril durante um minuto e engolir a saliva vigorosamente após outro minuto de mastigação a sua saliva será estimulada e coletada conforme é demonstrado na figura 05:

figura 05 : determinação do método para coleta de saliva

3.11 – Análise microbiológica da saliva

Dos voluntários incluídos no estudos foram quantificados os níveis de S. Mutans antes e depois dos sete dias com os bochechos com as soluções avaliadas.

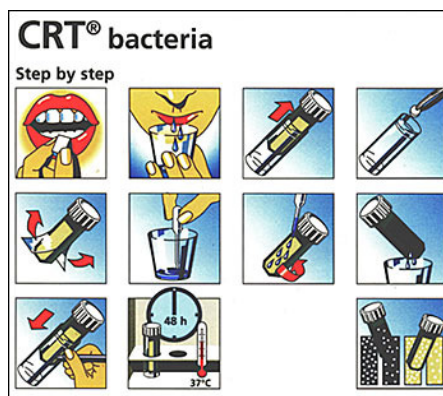


Fig.06: Atividades de Identificação Microbiológica por pesquisador cego.



Fig.07: Provas Bioquímica s. mutans ..pesquisador cego.

3.10 - VALORES BASAIS

Nas primeiras semanas do estudo, os voluntários foram submetidos aos exames clínicos acompanhados de um questionário sócio econômico; para só assim ser submetido ao tratamento com soluções para bochecho, as coletas de saliva foram realizadas nas condições habituais, a fim de verificar a microbiota normal de cada voluntário.

Para tanto o método acima descrito por KHOLER & BRATAHALL, 1979 minimiza possíveis interferências da dieta uma vez que os voluntários eram orientados após a estimulação salivar durante um minuto a descartar ou engolir a primeira saliva produzida no primeiro minuto.

Os voluntários compareceram ao consultório odontológico da Fundação Mandacaru, no período da manhã (até às 10:00h), para a realização da colheita de amostras de saliva para a consequente quantificação de *S.mutans*, exames clínicos e entrevistas com base no questionário sócio-econômico realizado por uma funcionária da Fundação Mandacaru.

A média individual dos resultados obtidos com as duas medidas foi considerada como valor basal do número de *S.mutans* de cada voluntário e serviu como referência (linha base) para comparação com as demais condições do estudo.

Fig.08: Placas petri mostrando as duplicatas em diluição

3.12 – BOCHECHOS

Os indivíduos selecionados receberam uma solução com a substância a ser testada (princípio ativo) uma letra que foi identificado cabendo apenas ao Prof. Said o Sigilo absoluto da mesma sendo revelada após o estudo para as devidas análises. Cada um dos voluntários recebeu um frasco de vidro âmbar contendo 150 mL da solução teste com as instruções, por escrito, de como utilizá-la. Sendo o bochecho feito sob orientação de uma funcionária da Fundação.



Fig 09 Bochechos orientados.

Diariamente, durante 7 dias consecutivos, uma hora após a última higienização bucal do dia, os voluntários bochechavam 10 ml. da solução por 30 segundos. Após o bochecho, os voluntários eram orientados à não beber líquidos ou alimentarem-se durante pelo menos 2 horas.

Fig 10 Visita domiciliar para Bochechos orientados

Neste período foram colhidas amostras de saliva e quantificados o número de *S. mutans*. Os resultados obtidos com este procedimento foram considerados como o valor do número de *S. mutans* por ml. de saliva no início do tratamento.

3.14 Avaliação Microbiológica

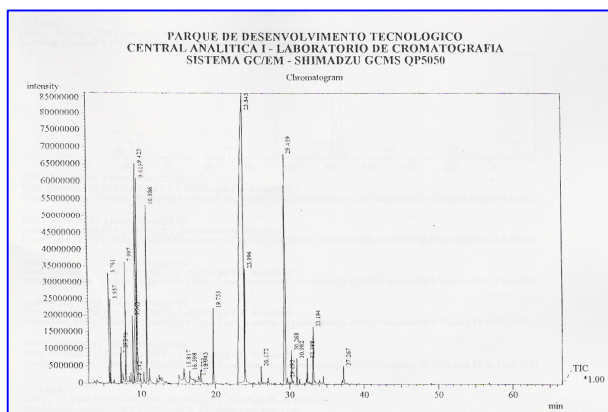
Para a avaliação dos índices microbiológicos foi usada a contagem bacteriana da saliva que isola de forma efetiva e fornece uma visão geral do quadro infeccioso na cavidade oral. O método é fácil, simples, válido, e foi mostrado ser exato e de confiança para a contagem bacteriana ao invés de amostras da placa bacteriana. A saliva permite representar de forma fidedigna a carga oral do microorganismo assim como a sua colonização média na dentição[13,14,15]. As amostras da placa bacteriana representam somente um único local, e há uma variação larga em números bacterianos entre o dente com diferentes superfícies.[16]

além disso, a coleção da quantidade de placa é difícil, peso, cronometragem, medir, e ainda pode facilmente faltar uma área chave ao coletar as amostras.[17] No estudo atual, houve uma redução imediata significativa na contagem de *streptococcus mutans* em todos os grupos. Não havendo nenhuma diferença significativa nas contagens entre os três grupos.

3.15 coleta da planta, extração e Análise do óleo essencial.

A planta foi coletada na Fazenda da PRONAT (Produtos Naturais LTDA.) assim como a extração do óleo essencial. A preparação dos anti-sépticos executada no Laboratório de Farmacotécnica da Faculdade de Farmácia da UFC.

A identificação dos compostos presentes nos extratos foi feita pelo PADETEC. (figs 11 e 12).



GCMS Sample Information

OPERADOR: Admin
CODIGO : ILJPIASIDOIDES DATA: 28/10/04 09:06:33
AMOSTRA - OLEO ESSENCIAL DE LIPPIA SIDOIDES
DATA:28/10/2004
ORIGEM:MARCO BOTEH.HO
PREPARADA POR RICARDO
ORIGEM:OLGA RAMOS

METODO - C:\Olgaleo-spl.qgm

GCMS Peak Report

Peak#	R.Time	Area	Height	ΔH	Mark	%Total	Name	Base m/z
-------	--------	------	--------	----	------	--------	------	----------

Análise dos compostos encontrados no óleo essencial usado na fabricação do antisséptico bucal do Alecrim pimenta.

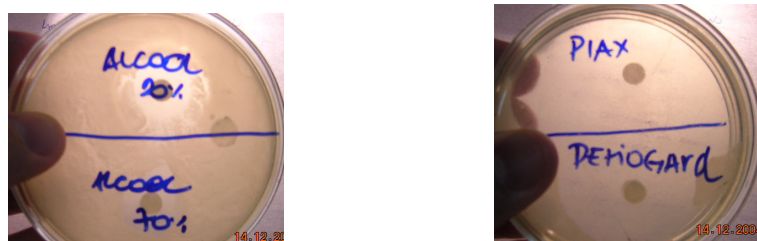


Figura 13 . mostrando a atividade antibacteriana dos antissépticos comerciais.

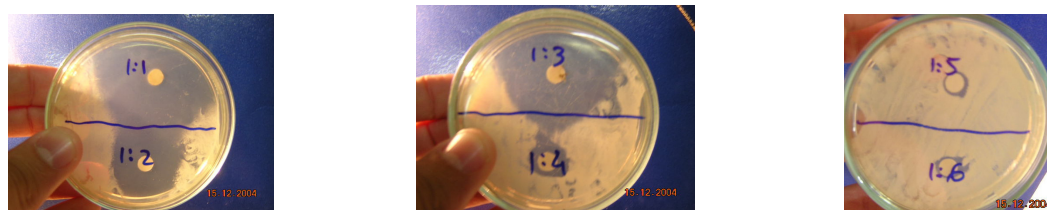


Figura 14 . mostrando a atividade antibacteriana do óleo de acordo com a sua diluição.

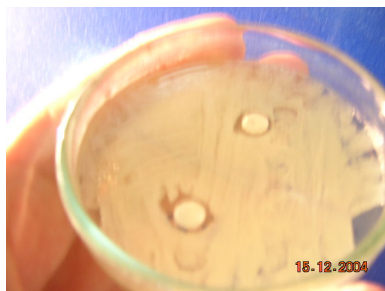


Figura 15 . atividade antibacteriana do óleo a 1% e o timol puro a 50% .

3.14 Preparação dos anti-sépticos bucais



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
DISCIPLINA DE TECNOLOGIA FARMACÉUTICA

Composições utilizadas no ensaio de poder anti séptico no combate a placa bacteriana

Tintura de folhas de NEEM

Folhas secas de NEEM (<i>Azadirachta indica</i>)	20g
Solução hidro-alcoólica 70% v/v q.s.p.	100ml

Folhas coletadas no horto de plantas medicinais do LPN/Pici/UFC, dessecadas em estufa a 40°C, e grosseiramente trituradas.

Anti séptico de alecrim-pimenta

Óleo essencial de Alecrim-pimenta (<i>Lippia sidoides</i>)	1,00ml
Polissorbato 80 (monooleato de polioxietileno sorbitano)	9,00ml
Mentol	0,06g
Ácido cítrico	0,60g
Sacarina sódica	0,40g
Água purificada q.s.p.	100,00ml

O óleo essencial foi adquirido da empresa PRONAT e processado como recebido.

Solução de digluconato de clorhexidina

Digluconato de clorexidina sol 20%	0,60ml
Nipagim	0,15g
Steviosídeo	0,10g
Essência de Menta	0,20ml
Propilenoglicol	5,00ml
Água purificada q.s.p.	100,00ml

A concentração de digluconato de clorhexidina na solução final fica em 0,12%.

SOLUÇÃO DE CLOREXIDINA A 0,12 %

A solução teste de clorexidina foi feita a partir de 120 mg de gluconato de clorexidina diluída em 100 mL de água destilada, deionizada e esterilizada, adicionando-se esteviosídeo a 2% e essência de hortelã a 5 %, concentração final de 0,12%.(Farmácia Magistral).

SOLUÇÃO DE NEEM A 20 %

Foi elaborada uma fórmula para a preparação do anti-séptico, com uma concentração de acordo com PAI , (2004) .

As amostras foram preparadas e enviadas para o controle de qualidade na Faculdade de Farmácia da UFC. Foram elaboradas fichas clínicas de cada paciente, constando nome, idade, perguntas sobre a saúde física bem como a avaliação diária, durante o período do experimento, do índice de placa bacteriana e do índice de sangramento marginal.

3.13 EXAMES DE SEGUIMENTO

Os pacientes foram reexaminados de acordo com os critérios diagnósticos acima descritos e interrogados sobre o sabor das soluções 7 e 30 dias após o primeiro dia de tratamento.

Os exames clínicos foram repetidos nas visitas de seguimento. Antes e após o tratamento, os pacientes foram examinados pelo mesmo investigador. Para avaliação do efeito *long-term* os pacientes foram re-avaliados clinicamente após 30 dias.



Figs. 16 e 17 . resultado clinico após o uso do antisséptico do óleo essencial do alecrim pimenta a 1%.

3.14 Documentação de efeitos adversos e aceitabilidade

Sintomas indicativos de efeitos adversos relacionados ao tratamento foram acessados a cada visita de seguimento. Pacientes apresentando eventos adversos receberam assistência profissional e no presente estudo não houve a necessidade de aplicação de uma terapia curativa adequada. Os pacientes que apresentaram efeitos colaterais (ânsia de vômitos) foram acompanhados e tais efeitos cessaram após a continuidade do tratamento.

3.15 ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram digitados e checados para erros que possam ter acontecido na digitação através do programa Epi Info versão 6.04d (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, OA, EUA) e analisados pelo programa STATA versão 7.0 (Stata Corporation, College Station, TX, EUA).

Todos os dados foram computadorizados através do programa Epi-Info, versão 6.04d e analisados pelo programa STATA (versão 7). Foram realizados testes paramétricos e não

paramétricos para análise dos dados, como teste t, teste t pareado, ANOVA, teste de qui quadrado e análise multivariada.

Para a comparação de proporções de variáveis dicotômicas foi utilizado o teste exato de Fisher. Como as variáveis contínuas não foram distribuídas de forma normal, foram apresentadas a mediana e as amplitudes interquartis. Para efeito de comparação com outros estudos, uma razão proporcional aritmética foi calculada em alguns momentos. O teste utilizado para a comparação dessas variáveis foi o Wilcoxon Mann-Whitney para amostras não pareadas.

3.16 Tamanho da Amostra

Para detectar uma diminuição da média do escore de índice gengival em um grupo de 2,5 a 1,5 com poder de 90% e α de 95% foi necessário um tamanho de amostra de 24 participantes por grupo. Levando em consideração uma margem de segurança e possível perda de seguimento, foram incluídos cerca de 27 indivíduos em cada grupo, perfazendo um total de 81 participantes do estudo.

3.17 Randomização e Tratamento

Os participantes do estudo foram alocados para o tratamento pela randomização em blocos de seis cada. O paciente e os investigadores foram mascarados a respeito do tratamento alocado. Foram formados três grupos de tratamento:

- a. Gp 1- bochechos com Antisséptico bucal de Alecrim-pimenta (Óleo essencial a 1%)
- b. Gp 2 - bochechos com Antisséptico bucal de Neem (hidroetanólico a 70 %)
- c. Gp 3 - bochechos com clorexidina 0,12% (como controle positivo)

3.18 Vieses

Para diminuir os vieses, as seguintes medidas foram adotadas:

. **Viés de seleção:** a população-alvo consistiu em todo o universo de pessoas com problemas severos periodontais das localidades selecionadas.

. **Viés de participação:** foram realizadas reuniões com as líderes comunitárias responsáveis por cada localidade para colaborar no recrutamento das pessoas mais necessitadas de suas respectivas áreas. As reuniões com a população-alvo previamente à coleta de dados, o tratamento oferecido e os resultados entregues pessoalmente também contribuíram para maximizar a participação. O possível viés de participação, causado pela distância ao consultório, foi minimizado pela instalação do consultório dentro da comunidade.

. **Viés interobservador e de aferição:** todos os procedimentos foram realizados por um mínimo de investigadores: entrevistas e coloração de lâminas para bacterioscopia (única investigadora), exame clínico, coleta de material e exame direto da cavidade oral (o mestrando), leitura de lâminas de bacterioscopia (uma médica citopatologista).

. **Viés intraobservador:** todos os exames laboratoriais foram realizados por investigadores cegos em relação à identificação da participante, que foram identificadas através de números. Na entrevista foi utilizado um questionário estruturado. O exame clínico odontológico, a coleta da saliva e o manuseio do material foram realizados seguindo estritamente rotinas pré-estabelecidas. O material foi processado por laboratórios com rotinas estabelecidas para os exames em questão. O estudo foi planejado e realizado em curto espaço de tempo (dois meses).

. **Viés do respondente:** houve um treinamento anterior com a entrevistadora na forma de abordagem das perguntas e reação às respostas obtidas, principalmente as consideradas de cunho mais íntimo. Antes de cada entrevista foi reforçado à participante a natureza sigilosa e a importância da veracidade das informações obtidas. As entrevistas foram realizadas em ambiente reservado e por uma entrevistadora do sexo feminino.

Considerações éticas

O protocolo do estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará (COMPEPE/HUWC/UFC) [anexo 3]. Todos as participantes, assinaram o termo de consentimento pós informação. Na ocasião dos exames, foi utilizada a abordagem do índice periodontal comunitário preconizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), recebendo os pacientes, medicação para si. Neste estudo optou-se pelo tratamento dos pacientes através de bochechos orientados para cada participante. Essa escolha foi tomada não somente por razões logísticas, mas por maior aceitabilidade da comunidade local (sugestões das reuniões de sensibilização). Além do mais, esse método tem se mostrado mais efetivo do que a distribuição do medicamento para o uso em casa[32]. Todas as informações foram manuseadas de forma sigilosa, e todos os resultados de exames foram entregues pela mestrandia aos participantes em consultas previamente agendadas no consultório da Fundação Mandacaru (em ambiente improvisado, porém reservado) Nesta ocasião, os pacientes que apresentaram Problemas Periodontais severos receberam esclarecimento acerca da doença e medicação para si e para sua família. Todos os pacientes que apresentaram DP foram orientados para consulta de retorno no consultório Odontológico recém implantado na sede do Centro Comunitário da Fundação Mandacaru.

4. Resultados

4.1 Características demográficas e sócio-econômicas

Foram examinados 81 indivíduos maiores de 20 anos de idade, do total de 105 selecionados previamente na comunidade Serviluz / morro do Sandra's 59.28% pacientes e 40.72% das localidades adjacentes Morro do Sandra's, sendo 44 do gênero feminino **44 (54.32%)** e **37 (45,68%)** do gênero masculino. De ambos os gêneros, sessenta e oito eram edêntulos parciais. A mediana da idade foi 31 anos (amplitude 20 - 65; amplitude interquartil 24-38; média = 38 ,3 anos).

De uma maneira geral, as condições quanto ao número de unidades dentais presentes na cavidade oral apresentam-se nesta população conforme a descrição na Tabela 2.

Tabela 1 : Numero de dentes na boca por faixa etária

	Faixa Etária	Média	dp	
	< 20	28	1.8	
	20 -35	27	3.6	
A fim de	35 – 50	19.4	4.4	possibilitar
uma visão	50 – 65	13	2.3	geral dos
indicadores de				doença
pesquisados e				suas
correlações				com os

indicadores de risco, foi elaborada a Tabela 2.

Variáveis Avaliadas	Calculo Dentário	Sangramento	p
Idade	0.005*	0.42	<0,05
Tabaco	0,038*	0.63	<0,05
Escolaridade	0,015*	0.48	<0,05
Ultima consulta	0.141*	0.67	<0,05

* * correlação estatisticamente significativa

No Brasil, a doença periodontal encontra-se dentro dos padrões mundiais em sua forma moderada e grave, ou seja entre 10% e 15%., o único estudo de prevalência que se tem é o levantamento epidemiológico do MS, no qual a prevalência é menor. Contudo, foi usado o CPITN, o que leva a uma perda de alguns dados, não permitindo uma comparação direta com trabalhos epidemiológicos utilizando dados de todos os dentes.

Sendo assim, os indicadores de risco considerados internamente ao grupo, a escolaridade, a faixa etária e o tabagismo, que apresentaram relação estatisticamente significativa com os indicadores IP e ISG, parecem confirmar a teoria de sua atuação como agravantes da doença periodontal.

4.2 Critérios Clínicos e Microbiológicos

No presente trabalhos foi avaliado a eficácia de substancias no controle da placa bacteriana e na gengivite. Os gráficos e as tabelas a seguir ilustram o desempenho de cada substancia para cada índice avaliado nos seus referidos grupos.

Tabela 1: Valores Basais (*Baseline*) clínico (índice de placa bacteriana)

Grupos Avaliados	Meida	Median a	dp	p
Grupo 1 - Alecrim-pimenta	1.69	0.55	68 %	<0,00 1
Grupo 2 - Neem	1.62	0.71	57 %	<0,00 1
Grupo 3 - Clorexidina	1.74	0.43	75 %	<0,00 1

Considerando-se os pacientes avaliados quanto à redução da placa bacteriana, os gráficos demonstram uma expressiva e significativa redução no índice de placa bacteriana sendo detectada em todos os grupos avaliados ficando com a clorexidina o melhor desempenho 75%, sendo seguida pelo alecrim pimenta 68% e o Neem com o pior desempenho 57%, no critério de redução da placa.

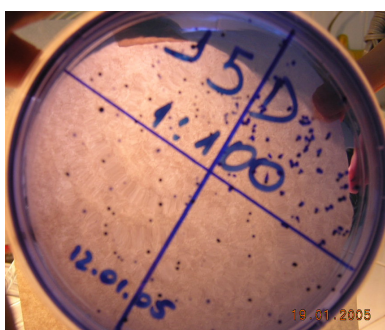
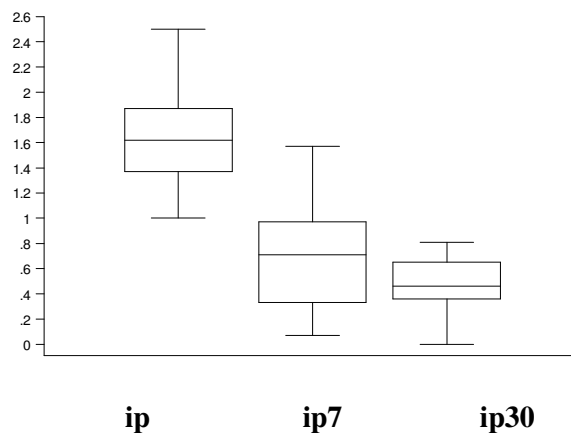


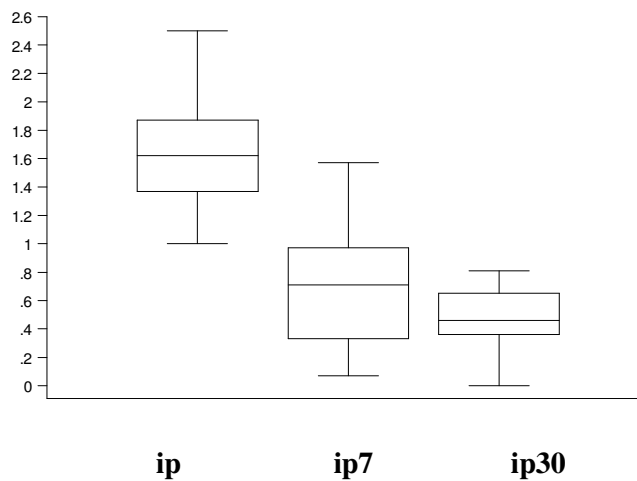
Fig 04 número de UFC nas placas em duplicatas diluição 1:100 após realização dos bochechos

4.2. Gráficos dos Índices avaliados

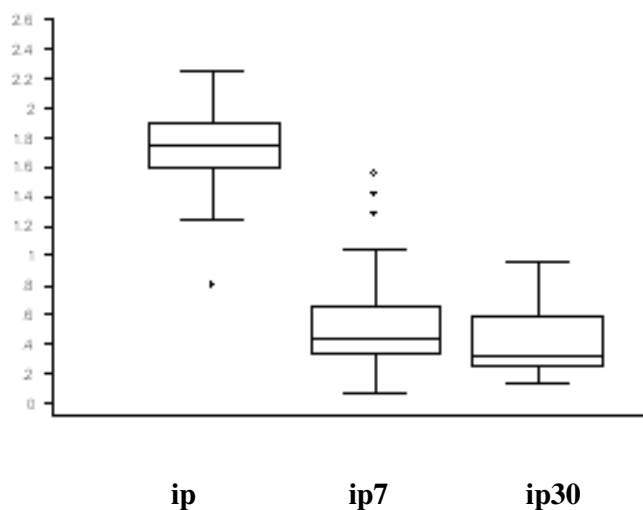
Índice de Placa - Grupo Alecrim Pimenta- Grupo 1



Índice de Placa - Grupo Neem - Grupo 2



Índice de Placa - Grupo Clorexidina - Grupo 3



Consi	Grupos Avaliados	Meida	Median a	dp	p
derando-se					

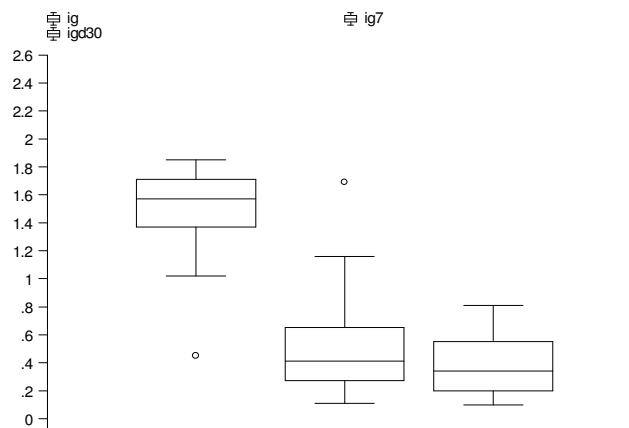
os pacientes avaliados quanto à redução do índice gengival, a tabela 3 abaixo e os gráficos demonstram uma expressiva e significativa redução no índice gengival sendo também detectada uma redução estatisticamente significativa ($p < 0.005$) em todos os grupos avaliados ficando com a clorexidina o melhor desempenho 74,69 %, sendo seguida pelo alecrim pimenta 73.88% e o Neem com o pior desempenho 70 %, no critério de redução do índice gengival.

Tabela 3: Baseline clínico (índice Gengival)

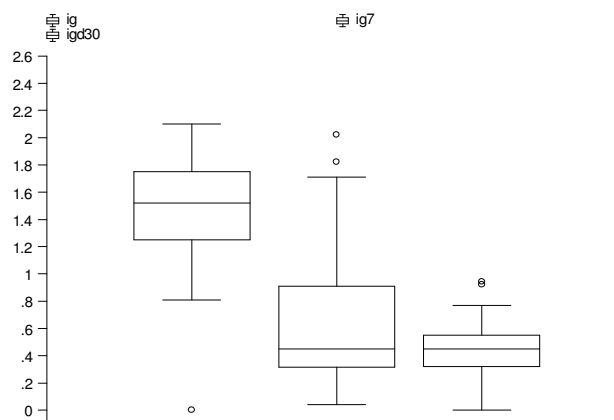
Grupo 1 - Alecrim-pimenta	1,57	0,41	73,88 %	<0,00 1
Grupo 2 - Neem	1,52	0,45	70,39 %	<0,00 1
Grupo 3 - Clorexidina	1,62	0,41	74,69 %	<0,00 1



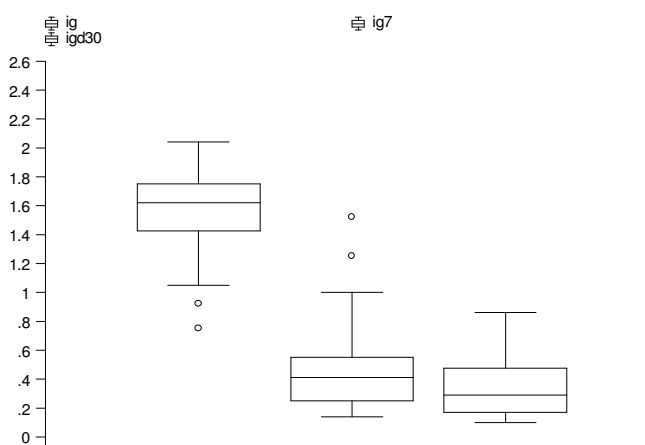
Índice Gengival - Grupo Alecrim Pimenta- Grupo 1



Índice Gengival - Grupo Neem - Grupo 2



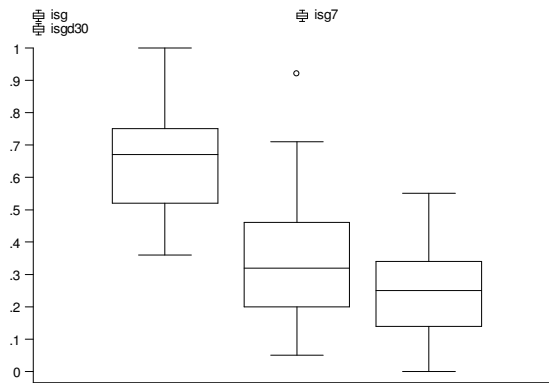
Índice Gengival - Grupo Clorexidina - Grupo 3



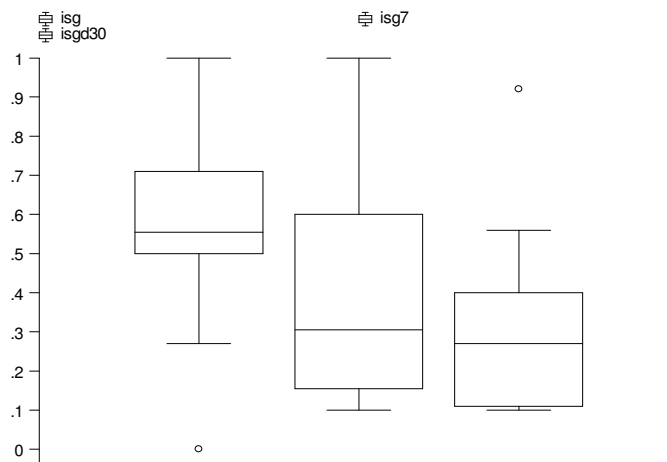
Considerando-se os pacientes avaliados quanto à redução do índice de sangramento gengival, a tabela 4 abaixo e os gráficos demonstram uma expressiva e significativa redução deste índice sendo detectada uma redução estatisticamente significativa ($p < 0.005$) em todos os grupos avaliados ficando desta feita O grupo do Alecrim Pimenta o melhor desempenho 52%, sendo seguido pela Clorexidina 50% e o Neem com o pior desempenho 44 %, no critério de redução do índice de sangramento gengival.

Tabela 4: Baseline clínico (índice Sangramento Gengival)

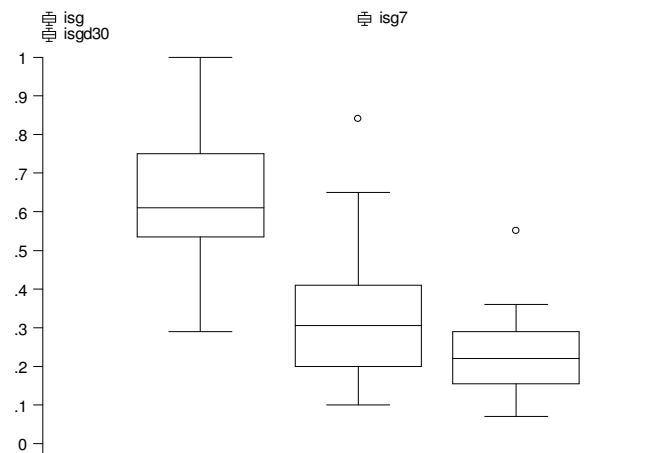
	Grupos Avaliados	Meida	Median a	dp	p
Índice de Sangra mento Gengival - Alecrim-pimenta - Grupo 1	Grupo 1 - Alecrim-pimenta	0,67	0.32	52 %	<0,001
	Grupo 2 - Neem	0.55	0.3	44 %	<0,001
	Grupo 3 - Clorexidina	0.61	0.3	50 %	<0,001



Índice de Sangramento Gengival - Alecrim-pimenta - Grupo 2



Índice de Sangramento Gengival - Alecrim-pimenta - Grupo 3

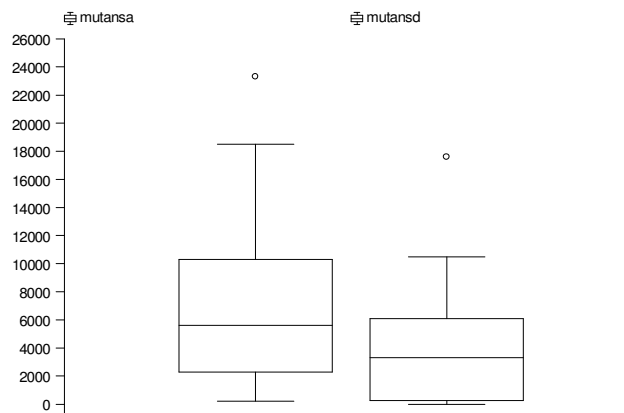


Considerando-se os pacientes avaliados quanto à redução do índice de *S.mutans*, a tabela 5 abaixo e os gráficos demonstram uma expressiva e significativa redução deste índice sendo detectada uma redução estatisticamente significativa ($p < 0.005$) em todos os grupos avaliados ficando desta feita O grupo do Neem com o melhor desempenho 86,51%, sendo seguido pela Clorexidina 72,72% e o Alecrim com a menor redução bacteriana 41,07 %, no critério de redução do índice de *s.mutans* por ml de saliva.

Tabela 4: Redução do numero de *S.mutans* por ml na saliva.

Grupos Avaliados	Mediana A	Mediana D	Redução	p
Grupo 1 - Alecrim-pimenta	5600	3300	41.07 %	<0,001
Grupo 2 - Neem	8900	1200	86.51%	<0,001
Grupo 3 – Clorexidina	3300	900	72,72%	<0,001

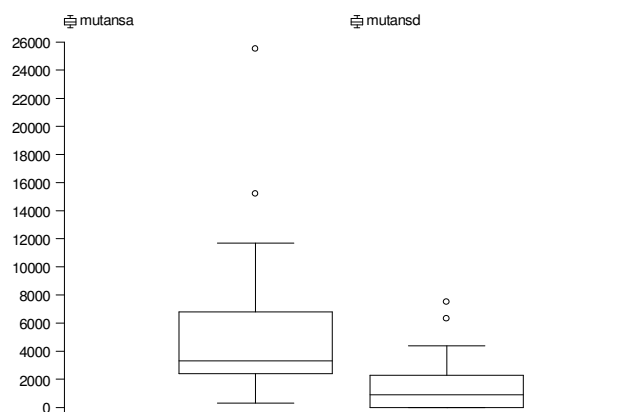
Índice de S.Mutans Alecrim-pimenta - Grupo 1



Índice de S.Mutans Neem - Grupo 2



Índice de S.Mutans Clorexidina - Grupo 3



5. Discussão

5.1 Eficácia das Substâncias Testadas

A seleção dos extratos naturais tanto da árvore do Neem como o Alecrim Pimenta para o estudo atual foi baseada em um número de fatores. O uso do alecrim é o mais comum na região nordeste e o Neem na Índia, o alecrim mostrou possuir um sabor não desagradável, é barato, e foi relatado previamente possuir muitos properties além da sua comprovada atividade anti-carie[34]. No Presente estudo foi avaliado a eficácia clinica do uso de três substancias no controle da placa bacteriana e gengivite, de acordo com os índices preconizados pela OMS.

O começo da doença periodontal ocorre com a acumulação de uma película fina das bactérias na superfície dos dentes chamado placa bacteriana.

Novos estudos tentaram entregar as drogas em maneiras diferentes tais como alimentos em humanos. Muitos agentes antimicrobianos foram tentados enquanto enxagüatório e anti-sépticos bucais no intuito de controlar infecções orais com pobres para moderados graus de sucesso, exceto a clorexidina que foi provado ser seguro em reduzir a formação da gengivite e da chapa [Emilson, 1994 e Bowden, 1996].

As soluções avaliadas no presente estudo foram os anti-sépticos a base de produtos naturais feitos a base de extratos do Alecrim pimenta, Neem e o padrão ouro Clorexidina 0.12% os quais reduziram de maneira estatisticamente significativa ($p < 0,05$) todos os três índices clínicos assim como a contagem do número de UFC (Unidades Formadoras de Colônias) de *S.mutans* por ml de saliva (critério microbiológico) avaliados no período compreendido entre 7 dias (*shot term*) e 30 dias (*long term*).

A presença de cálculo foi detectada em 84 % dos indivíduos, ocorrência alta se comparada aos dados encontrados por Gesser et al. [29], 50,7% ou Tomita et al., 17% de ocorrência, ambos em população brasileira. Por ser um dificultador da higiene bucal, o cálculo pode ter contribuído para a prevalência de sangramento gengival (91%), dado indicativo de gengivite. Em apenas sete indivíduos não se observou a ocorrência de sangramento à sondagem, prevalência muito alta, quando comparada à encontrada por Hornig et al.[34], em uma clínica militar: 37%. No entanto, esses resultados são similares ao de Costa [5], que, em um estudo, verificou a presença de sangramento em 100% da amostra avaliada. Em outro estudo realizado no Brasil, Gesser et al.[54]observaram uma prevalência de 86%.

Considerando-se os pacientes dentados, a presença de cálculo foi detectada em 84 % (68) dos indivíduos examinados. O sangramento à sondagem apresentou uma prevalência de 91.35% (74 indivíduos).

O levantamento nacional apresentou dados mais positivos para a população brasileira com renda similar a que foi avaliada no presente estudo (61% de presença de sangramento e 48% de cálculo) e ainda melhor se considerada somente a Região Sudeste (42% e 40%, respectivamente). Deve-se lembrar que esta população, além de renda média de um salário mínimo, possui baixa escolaridade (26% até quarta série) e pouco acesso aos serviços de atendimento odontológico, sendo os dois últimos fatores agravantes para a saúde.

Em relação ao gênero, pôde-se verificar que 55,9% dos indivíduos do gênero feminino e 75,7% do gênero masculino possuíam IP > 1.5mm, grupo em que foram observadas as

maiores perdas dentárias, diferença esta não significativa (Mann-Whitney, $p < 0,05$).

Considerando a escolaridade, o $IP > 1.5$ foi observada em 84,4% dos indivíduos com até a quarta série e 53,2% dos indivíduos acima da quinta série; a análise estatística demonstrou que essa diferença foi estatisticamente significativa (Mann-Whitney, $p < 0,05$)

Quanto ao fato de o indivíduo ser ou não fumante, 57,3% dos não fumantes e 85,7% dos fumantes possuíam $IP > 1.4$. A análise estatística mostrou que existe diferença estatisticamente significativa entre os fumantes e os não fumantes (Mann-Whitney, $p < 0,05$).

Quando uma análise por faixa etária foi realizada (Tabela 1), verificou-se um aumento do IG com o aumento da idade. O aumento nos valores (18 a 20 anos) sofre um acréscimo médio de 0,49 na faixa compreendida entre (21 a 35 anos), e 0,2 (36 a 45 anos) e 0,3mm (46 a 60 anos). Em virtude da progressão da doença, que acarreta perdas dentárias, a média do IG diminui na faixa etária com mais de 60 anos, sendo de 0,3, mas, excetuando-se esta faixa etária, a diferença foi confirmada estatisticamente (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$), indicando existir uma relação entre a Índice gengival e a faixa etária.

Através do tratamento estatístico dos dados, não foi possível relacionar o índice de sangramento gengival com a última consulta ao dentista e com o fato de o indivíduo ser ou não diabético.(viés de informação).

A escolaridade e o tabagismo parecem ser fatores de risco para a doença periodontal (Mann-Whitney, $p = 0,003$ e $p = 0,018$, respectivamente). Locker & Leake , Ismail et al. e Elter et al. relataram que a baixa escolaridade é um indicador de risco para doença periodontal. O tabagismo também é considerado fator de risco significativo. Stoltemberg et al. concluíram que fumantes possuem cinco vezes mais chance de possuir um IG aumentado quando comparado a não fumantes, muito próximo do encontrado neste estudo, cuja *odds ratio* foi de 3,28.

Estudos longitudinais da progressão da doença em adolescentes indicam que indivíduos com sinais de periodontite destrutiva em idade jovem estão predispostos à deterioração futura. Assim sendo, a deterioração parece ser mais pronunciada nos sítios inicialmente afetados, em pacientes diagnosticados com periodontite juvenil e oriundos das classes sócio-econômicas mais baixas^{5,39}. Desta maneira, podemos concluir que a alta prevalência da doença na faixa 18 a 20 anos segue um processo de destruição periodontal na faixa de 21 a 35 anos e atinge o maior grau de destruição na faixa de 46 a 60 anos, grupo etário em que foi encontrados os maiores índices periodontais avaliados, com diferença estatisticamente significativa (Mann-Whitney, $p = 0,031$). Por causa das perdas dentárias ocasionadas pela doença.

Observando a escolaridade, 48 % dos indivíduos que estudaram até a quarta série e 45,3% dos indivíduos acima da quinta série mostraram uma discreta melhora nos seus índices. A última consulta ao dentista foi realizada em até 24 meses por 46,7% dos examinados e acima de 24 meses por 53,3%.

Convencionalmente o gluconate do clorexidine a 0.12% é usado para o tratamento de infecções orais. O gluconato de Clorexidina em gel [Emilson, 1981 e Sennel et al., 2000] e as películas [Natalie et al., 1999] foram avaliadas como sistemas melhores na entrega para tratar as infecções locais na cavidade oral. Embora descoberto nos anos 50, a clorexidina, é considerado ainda um dos agentes os mais eficazes no controle e tratamento anti-placa na odontologia. Entretanto, o uso a longo prazo é limitado por seu gosto desagradável e propensão para manchar de cor marrom os dentes [Fardal e Turnbull, 1986].

Conseqüentemente, a eficácia do antisséptico do óleo essencial da *Lippia sidoides* (alecrim) e do extrato da folha *Azadirachta indica* (Neem), no controle e prevenção na formação da placa foi avaliada. A *L. sidoides* Cham, é uma planta da família das (verbanaceas) muito utilizada na medicina popular como antisséptico geral de uso tópico na pele, boca, nariz e garganta, infecções intestinais e como vermífugo, principalmente contra

Platelmintos. Com base na sua importância como fitoterápico, ela foi introduzida nos programas governamentais de fitoterapia em vários estados e municípios nordestinos. O Neem (*Azadirachta indica*), pertence à família Meliaceae e é distribuído extensamente em Ásia e em África. Quase cada parte da árvore foi usada em sistemas indígenas da medicina para o tratamento de uma variedade de alimentos humanos, particularmente de encontro às doenças da origem bacteriana e fungos [Randhawa e Parmar, 1996]. Patel e Venkatakrishna, estudaram o efeito terapêutico do Neem em distúrbios periodontais na Índia. Onde este mostrou uma considerável melhora na eficácia em reduzir as culturas bacterianas da placa bacteriana humana assim como as bactérias gram-negativas comparadas ao dentífrico comercialmente disponível. [Rao et al., 1986], descreveram a atividade anti-bacteriana *in vitro* do óleo do neem em diferentes patógenos bacterianos isolados das fontes clínicas variadas. devido ao gosto amargo da droga o uso do neem em várias preparações comerciais era restrito.

Assim, o antisséptico do extrato do neem foi formulado junto com um adoçante e uma melhora com um sabor artificial para aumentar a conformidade e a aceitabilidade para os pacientes.

No estudo atual, a intenção foi tentar usando um antisséptico líquido como agente liberar a droga através da mucosa oral. Para comparar a eficácia da formulação dos anti-sépticos que contêm os extratos do Alecrim e Neem com a clorexidina (Padrão-Ouro).

A eficácia dos anti-sépticos do Óleo essencial do Alecrim e do extrato do neem foi avaliada pelo estudo clínico e microbiológico com o anti-séptico comercialmente disponível da clorexidina.

O estudo atual suporta os estudos similares conduzidos para determinar a eficácia das formulações e das dosagens convencionais das formulações que liberam a droga localmente na cavidade oral.

A avaliação clínica dos anti-sépticos naturais do alecrim e do extrato do neem sobre um período 4-semanas mostrou uma redução significativa ($p < 0.05$) em todos os 4 (quatro) índices periodontais avaliados.

O Alecrim se mostrou com uma atividade superior ao padrão ouro no critério sangramento gengival.

Para melhor mostrar a atividade entre os grupos tratados em comparação com a clorexidina (tabela 1, tabela 2 e tabela 3). A contagem microbiana na saliva foi avaliada e encontrados valores estatisticamente significantes na sua redução pelos 3 agentes testados de acordo com os gráficos (Fig. 1 e Fig. 2).

A eficácia observada dos anti-sépticos testados poderia ser atribuído ao fluxo diminuído do saliva durante a noite [Edgar, 1992], para diminuir esse viés foi administrado a droga apenas em dois períodos o matinal e o taciturno e como a solução era líquida em contraste da elaborada por PAI essa não possuía a propriedade de retardar a liberação da droga da matriz viscosa do formulação do gel que mantém a concentração da droga bem acima da concentração terapêutica. Isto poderia também ser devido à propriedade mucoadesiva do carbopol que permanece na cavidade oral por um período prolongado que prolonga a ação da droga.

O anti-séptico de Clorexidina foi também muito bem sucedido em reduzir o índice da placa e a contagem microbiana comparados em um nível sem diferenças estatisticamente significantes ao grupo do Neem e do Alecrim.

Fica clara a partir deste estudo que aplicando a formulação regularmente dos antissépticos na duração total da terapia (7 dias) pode ser elevada a uma extensão maior dos índices avaliados com a devida instrução do paciente.

Este estudo também mostrou determinadas vantagens à terapia convencional relativa a como manter níveis eficazes de um agente antimicrobiano localmente por um período

prolongado e pode ser útil para a aplicação em crianças, idosos e pacientes com dificuldade motora, os quais não pode controlar seu reflexos musculares. Assim, a formulação do anti-séptico do alecrim pois sendo este o mais bem aceito entre os pacientes pesquisados pode ser usado com taxas elevadas de sucesso de aceitação clínica e cultural para tais pacientes com infecções orais.

Este estudo mostrou uma eficácia maior do Alecrim quando comparado ao Neem e a clorexidina no fator sangramento gengival isto nos leva a crer que outros mecanismos além do controle bacteriano devem estar envolvidos no processo inflamatório de encontro às infecções orais locais quando aplicado na formulação aqui descrita.

O Neem se mostrou superior aos outros dois grupos no quesito índice de S. mutans. Entretanto, cabe lembrar que em uma concentração hidro-etanólica de 70% também foi capaz de induzir um halo de inibição bacteriana bastante claro fato este que nos leva a questionar em parte a ação do Neem nesta concentração, dessa maneira para a futura comercialização deste produto, estudos adicionais serão requeridos com número expressivo de pacientes.

Os anti-sépticos herbais forneceram uma redução significativa na contagem de bactérias cariogênicas na saliva assim como também foram eficazes em diminuir todos os índices periodontais avaliados não mostrando diferenças estatisticamente significantes quando comparado com o grupo controle padrão-ouro.

Avaliado os resultados obtidos pela análise estatística para o grupo 1 (alecrim pimenta) em parte estes resultados estão de acordo com os aqueles relatados por Fernandes Filho (1996), quando este autor relata que houve redução da placa bacteriana da ordem de 6% e 12% para gengivite. Os números encontrados no presente trabalho demonstram um nítido contraste sendo o alecrim responsável por uma redução de 52 % para a placa bacteriana, 73.8 % para a gengivite e cerca de 68% para o índice de sangramento gengival

O extrato hidro-etanólico do Neem obteve resultados que divergem em parte com um ensaio clínico nos mesmos padrões realizados por PAI et al 2004, Os números encontrados no

presente trabalho demonstram que o Neem foi responsável por uma redução de 52 % para a placa bacteriana, 73.8 % para a gengivite e cerca de 68% para o índice de sangramento gengival para mais quando comparado como referido trabalho a mas estão em desacordo com o Pai et al. 2004 .

5.2 O Efeito Hawthorne

Um fator que pode influenciar o resultado destas investigações é o efeito Hawthorne. Os participantes em experimentações clínicas podem experimentar alguma melhoria associada não às propriedades terapêuticas do agente do teste mas sim estando esta relacionada mais a uma modificação do comportamento, em consequência da participação na experimentação.

Os sujeitos que participam em estudos de higiene oral da higiene melhoram seus hábitos de escovação independente do produto que eles recebam[15]. Desde que os voluntários nesta pesquisa eram moradores de uma comunidade de baixa renda, pode-se considerar que o efeito Hawthorne é de importância particular nos resultados da experiência. Além deste é possível que o período experimental (4 semanas) seja insuficiente para demonstrar a superioridade da Clorexidina sobre os antissépticos herbais.

5.3 Avaliação Clínica

A avaliação clínica dos produtos nos assuntos selecionados foi realizada com a ajuda de um dentista de acordo com os guias da declaração de Helsinque para as pesquisas biomédicas que envolvem assuntos humanos.

A permissão ética institucional do comitê foi obtida antes de começar o estudo e todos os indivíduos assinaram o formulário de consentimento. Os índices clínicos avaliados incluem a placa dental, a gengiva e o sangramento gengival.

Avaliar os índices a partir da linha de base (*baseline*) seguido pelo uso dos produtos especificados. O estudo clínico foi capaz de avaliar 81 indivíduos que foram selecionados a partir dos critérios de inclusão / exclusão foram divididos de forma randomizada em três grupos diferentes que continham cerca de 27 membros em cada grupo, de tal maneira que o índice médio dos índices clínicos de placa gengiva e sangramento de cada grupo permanece razoavelmente o mesmo.

O estudo consistiu em avaliar o status do índice da placa, gengiva e sangramento de acordo com os critérios dados por [Silness e Loe, 1964] modificado IPC (Índice periodontal Comunitário).

Os indivíduos realizaram bochechos com o anti-séptico a base do óleo essencial do alecrim pimenta, do extrato do neem e da clorexidina para a aplicação por um período de 7 dias. Depois do uso de 7 dias de seu produto atribuído, o dentista examinando marcou os indivíduos para uma nova avaliação clínica dos índices previamente escolhidos.

Sendo o mesmo examinador em cada exame clínico, para evitar variações do inter-examinador atendeu todos os indivíduos.

Durante o período do estudo os pacientes continuaram suas práticas diárias de higiene normal. Os grupos foram tratados como segue: Grupo I: Alecrim pimenta. Grupo II: Neem e Grupo III gluconato de clorexidina (controle positivo).

Para todos os integrantes dos grupos foram orientados bochechos de 30 segundos com apenas 10 ml do anti-séptico na cavidade oral por 1 minuto e solicitados para cuspi-los após este intervalo de tempo.

Em todos os indivíduos foram aplicadas a dosagem pré estabelecida após o café da manhã e imediatamente após o almoço. Para minimizar a variação os indivíduos foram monitorados por uma funcionária da Fundação a qual previa demonstrações e os treinavam a respeito da aplicação do respectivo anti-séptico formulado.

5.4 Avaliação Microbiológica

A quantificação dos estreptococos do grupo mutans na saliva, no presente trabalho, foi escolhida como método de avaliação da eficácia dos tratamentos devido a sua associação com a cárie dentária e o biofilme, bacteriano (GIBBONS & VAN HOUTE, 1975; LOESCHE et al, 1975; DASANAYAKE et al, 1995; BOWDEN, 1996).

A redução do número destas bactérias tem sido relacionada com o controle e prevenção de doenças orais (ZICKERT et al, 1982; ZICKERT et al.,1983; GISSELSSON et al, 1988; UNDQUIST et al, 1989; ISOKANGAS et al, 1991; BOWDEN, 1996).

Todos os voluntários apresentaram-se, em graus variados (média de $0,25 \times 10^4$ ufc/ml no início do estudo), colonizados por *S. mutans* spp., fato constatado pelos resultados do cultivo da saliva em MSB, conforme preconizado por GOLD (1973).

A saliva foi escolhida como nicho representativo da contaminação oral, pois, a contagem de seus microrganismos é apontada como o principal método utilizado para a quantificação de *S. mutans*. (DASANAYAKE et al, 1995), existindo uma relação direta entre seu número e o número de sítios intra-orais colonizados (TOGEUUS et al, 1984; DASANAYAKE et al, 1995).

Assim a redução do número de microrganismos proporcionada por cada tratamento, verificada neste estudo, poderia indicar uma condição de redução do biofilme bacteriano ou da doença cárie, embora estes parâmetros não tenham sido medidos (LODAL et al., 1961; SUOMI et al., 1971; AXELSSON et al., 1991).

Um outro componente, encontrado em todos os dentifrícios, tido como incompatível com a clorexidina é o detergente lauril sulfato de sódio (LSS) (KIRKEGMRD et al., 1974; ROLLA et al., 1970; ROLLA & MELSEN, 1975; BONESVOLL, 1977; BARKVOLL et al., 1988). Devido a esta incompatibilidade, BARKVOLL et al. (1989) recomendam um intervalo entre a

escovação com estes dentifrícios e bochechos com clorexidina, superior a 30 minutos ou, preferencialmente, próximo de 2 horas após a escovação, razão pela qual os voluntários desta pesquisa foram instruídos a fazer o bochecho com as soluções uma hora após a última escovação.

Para que tenha eficácia mínima como anti-séptico, o óleo de alecrim pimenta deve apresentar uma percentagem de cineol (agente irritante) abaixo de 15%. Os valores comprovados pela cromatografia gasosa, indicam que o óleo utilizado neste estudo era de qualidade superior.

A concentração de 1% escolhida para a solução do óleo de alecrim é apoiada pelo fato de que a CIM contra os patógenos mais comuns situa-se entre 0,5 a 1%[4], RAMACCIATO et al. Usando o tea tree oil (1999) observaram OM<0,0125% e CBM100 de 0,2% para *S. mutans* spp. e CIM<0,05% e CBM100 de 0,4% para *S. oralis* spp., *in vitro* Estes autores verificaram uma redução do número de bactérias com o uso de enxaguatórios a base de alho a 10%.

Como agente emulsificante para soluções aquosas de ambos os óleo essenciais foi utilizado o Tween 80, tradicionalmente utilizado pela indústria de cosméticos, pois não interfere com qualquer propriedade antimicrobiana do óleo (WILLIANS et al., 1990; CARSON et al, 1995).

As capacidades de inibição de crescimento e lise bacteriana do extrato de alecrim pimenta devem-se à presença de componentes do óleo tais como timol e carvacrol assim como outros componentes ativos[34].

A concentração do extrato de alecrim a 1%, empregada neste estudo, mostrou em estudos preliminares, ser suficiente para inibição de microrganismos orais, não justificando, portanto uma concentração mais alta, pois efeitos colaterais como ardor e gosto desagradável da solução poderiam ser agravados. A média de redução de *S. mutans* spp. observada neste estudo com relação a clorexidina é similar àquela verificada por NEUSCHIL et al. (1989),

embora as condições metodológicas tenham sido diferentes. Mais importante que a redução em si, é o fato de que as três soluções testadas conseguiram manter baixos níveis destes microrganismos, mesmo após uma semana após o término do uso da solução, o que vai ao encontro dos achados destes autores, que observaram ausência de efeito após 6 e 8 horas do uso da solução.

Dentre as várias posologias possíveis para o uso da clorexidina, aquela que usa a concentração de 0,12%, com bochechos únicos e diários já mostrou ser eficaz (CLARK & GUEST, 1994). Os achados do presente estudo são concordantes aos destes autores que mostraram redução de mais de 10 vezes o número inicial de *S. mutans* spp.

Uma vez que a clorexidina a 0,12% apresentou, no presente trabalho, uma eficácia comparável àquela verificada na literatura, seria possível inferir que as soluções de óleo de alecrim a 1% e extrato de Neem a 20% seriam tão eficazes quanto à mesma, pois as percentagens de redução não apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$).

A ação antimicrobiana destes dois agentes fitoterápicos verificada neste trabalho, já foi citada em estudos prévios. [1,8] mostraram, em um estudo clínico, a eficácia do óleo de alecrim sobre estreptococos orais, assim como a CIM para estreptococos *mutans* e várias bactérias anaeróbias orais foi estabelecida [13,87]

O presente trabalho comprova os achados *in vitro* de BOTELHO (1999) que observou valores de concentração inibitória mínima menores que 1,25% e bactericida igual a 0,2% para cepas de *S. mutans* sp.. Este mesmo trabalho mostrou inibição total de aderência em superfície de vidro para os microrganismos orais com uma concentração de 0,2% do óleo. Os presentes achados clínicos corroboram estes dados e confirmam a eficácia do óleo.

Da mesma forma, a atividade antimicrobiana do óleo de alecrim extrato de Neem foi demonstrada também sobre bactérias orais *in vivo* e *in vitro* (3). Estes dados vão ao encontro dos achados do presente trabalho, quando o neem e o alecrim provaram sua atividade sobre *S. mutans*.

Os efeitos colaterais da clorexidina tais como, manchas provocadas nos dentes (GREENSTEIN et al., 1986; JENKINS et al., 1993; LEARD & ADDY, 1997), gosto desagradável e alterações de paladar ou até mesmo a inflamação gengival (BOWDEN, 1996), não foram verificados. A razão provável seria a posologia empregada, isto é, bochechos duplos diários, por um curto espaço de tempo (1semana).

O presente trabalho mostrou que, na concentração empregada, o óleo de alecrim mostrou ser seguro, uma vez que não houve relatos de complicações sistêmicas sérias.

Como esperado, as maiores implicações quanto aos efeitos colaterais recaíram sobre a solução de extrato aquoso de Neem que provocou sensação significativa de mau hálito nos indivíduos e com gosto desagradável associado a alguns relatos de ânsia de vômitos.

Assim, o óleo de alecrim pimenta, e com as devidas correções nos efeitos adversos que proporciona, poderia ser incorporados em soluções para bochecho e dentifrícios como suplementos a higienização tradicional, atuando como agentes antimicrobianos tão eficazes quanto a clorexidina [19, 84].

Existem estudos na comparação da eficácia de substancias naturais [ramaciatto, pai, Fernandes filho] entretanto em nenhum deles foi realizado um estudo duplo cego controlado e randomizado dessa forma algumas observações podem ser avaliadas a cerca dos resultados assim como o tipo de desenho escolhido para a obtenção dos resultados.

6. Conclusão

Baseado nos resultados obtido podemos concluir que:

1. A solução aquosa de Neem a 20% e do óleo essencial do alecrim pimenta a 1%, quando usadas na forma de bochechos, exibiram eficácia similar à solução de clorexidina a 0,12% na redução da microbiota oral de estreptococos do grupo mutans, em voluntários sadios, podendo ser indicadas como alternativas clínicas;

2. As soluções de Neem a 20% e do óleo essencial do alecrim pimenta a 1%, apresentaram efeito residual nas três semanas pós-tratamento, apresentando efeito de redução a exemplo da clorexidina.

3. A solução aquosa de Neem a 20% apresentou o maior nível de efeitos colaterais ou indesejáveis, sendo que as soluções de óleo essencial do alecrim-pimenta a 1% e de clorexidina 0,12% não apresentaram efeitos colaterais ou indesejáveis.

4. A prevalência da doença periodontal está dentro dos padrões do Brasil e do mundo, apresentando uma prevalência de 66,4% na forma moderada e 9,6% na forma grave.

5. Quanto aos fatores de risco pesquisados a escolaridade, o uso do tabaco e a faixa etária eles mostraram relação com o IP, e somente a faixa etária mostrou relação com o uso de próteses.



“A estrada para as gerações futuras foi aberta o caminho ainda é tortuoso mas com os estudos futuros com certeza iremos melhor pavimentá-la “

Muito Obrigado a todos envolvidos no estudo !!!

FIM.

7. Referências

1. Ainamo J, Barmes D, Beagrie G, Cutress T, Martin J, Sardo-Infirri J. Development of the World Health Organization (WHO) Community Periodontal Index of Treatment Needs. *Int Dent J* 1982;32:281-91.
2. Addy, M. Chlorhexidine compared with other locally delivered antimicrobials. A short review. *J Clin Periodontol*, Copenhagen, v.13, p.957-964, 1986
3. Almas, K., The antimicrobial effects of extracts of *Azadirachta indica* (Neem) and *Salvadora persica* (Arak) chewing sticks. *Indian J Dent Res.* 1999 Jan-Mar;10(1):23-6.
4. Almeida Filho N, Rouquayrol M.Z. Fundamentos Metodológicos da Epidemiologia. In: Rouquayrol MZ organizador. *Epidemiologia e Saúde*. Rio de Janeiro: Medsi; 1994. p. 157-183.
5. Anderson MH: A review of the efficacy of chlorhexidine on dental caries and the caries infection. *J Calif Dent Assoc* 2003;31:211-214.
6. Axelsson, P. Current role of pharmaceuticals in prevention of caries and periodontal disease. *Int Dent J*, Guiedford, vA3, p.473-482, 1993.
7. Baelum V, Manji F, Fejerskov O, Wanzala P. Vality of CPITN's assumption of hierarchical occurrence of periodontal conditions in a Kenyan population aged 15-65 years. *Community Dent Oral Epidemiol* 1993;21:347-53
8. Barkvoll, P., Rolla, G., Bellagamba, S. Interaction between chlorhexidine digluconate and sodium monofluorophosphate in vitro. *Scan J Dent Res*, Copenhagen, v.96, n.1, p.30-3, 1988.
9. BARKVOLL, P., ROLLA, G., SVENDSEN, A.K. Interaction between chlorhexidine gluconate and sodium lauryl sulfate in vivo. *J Clin Periodontol*, Copenhagen, v.16, p.593-595, 1989.
10. Beck et al., 1996. J. Beck, R. Garcia, G. Heiss, P.S. Vokonas and S. Offenbacher, Periodontal disease and cardiovascular disease. *Journal of Periodontology* 67 (1996), pp. 1123–1137.
11. Binney A, Addy M, McKeown S, Everatt L. The choice of controls in toothpaste studies. *J Clin Periodontol* 1996;23:456-9.
12. Botelho, M.A, Soares J.B O óleo essencial do alecrim pimenta na prevenção da carie dental, XII Simpósio Brasileiro de Plantas Mediciniais. Fortaleza - CE p 57, 1994.
13. Bowden, 1996. G.H. Bowden, Mutans streptococci caries and chlorhexidine. *Journal of Canadian Dental Association* 62 (1996), pp. 703–707.
14. Brahmachari. G. , Neem - An Onipotent Plant: A Retrospection., *A European Journal. Of Chemichal Biology.* 2004
15. Bratthall D: Selection for prevention of high caries risk group. *J Dent Res* 59: 2178-2182, 1980
16. Bremecker et al., 1984. K.D. Bremecker, H. Stempel and G. Klein, Novel concept for a mucosal adhesive ointment. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 73 (1984), pp. 548–552.
17. Calixto. J.B Efficacy safety, quality control, marketing and regulatory guidelines

- for herbal medicines (phytotherapeutic agents) Braz J Med Biol Res 2000, 33 179:189.
18. Carvalho AF et al. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. Against *Aedes aegypti* linn. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003 Jun;98(4):569-71. pub 2003 Aug .
 19. Chattopadhyay, R.R., Possible mechanism of antihyperglycemic effect of *Azadirachta indica* leaf extract: part V. *Journal of Ethnopharmacology* 67 (1999), pp. 373–376. 1999.
 20. Chaurasia and Jain, 1978. Antibacterial activity of essential oils of four medicinal plants. *Indian Journal of Hospital Pharmacy*, 166–167.
 21. Checchi L, Montevecchi M, Gatto MR, Trombelli L. Retrospective study of tooth loss in 92 treated periodontal patients. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 651-6.
 22. Clark, D.C., Guest, J.L. The effectiveness of three different strengths of chlorhexidine mouthrinse. *J Can Dent Assoc*, Ottawa, v.60, n.8, p.711714, Aug. 1994.
 23. Costa. S.M.O., Contribuicao ao conhecimento quimico de plantas do nordeste do brasil *Lippia sidoides* Cham - *Tese de Doutorado em Química Orgânica – UFC – Fortaleza- Ce.*
 24. Craig RG, Yip JK, Mijares DQ, Boylan RJ, Haffajee AD, Socransky SS. Destructive periodontal diseases in minority populations. *Dent Clin North Am* 2003; 47:103-14.
 25. Cury. J.A.. Cury, A.A.D.B., Rebelo, M.A.B. Efeito de bochecho com clorexidina (CH) e Flúor (F) na redução de formação da placa dental e incorporação de flúor no esmalte dental. *Revta Bras Odont*, Rio de Janeiro, v. II n.3, Maio/Junho, 1994.
 26. Dasanayake, A.P. et al. Differences in the detection and enumeration of mutans streptococci due to differences in methods. *Archs Oral Biol*, Oxford, p.345:351, 1995.
 27. Edgar, 1992. W.M. Edgar, Saliva: its secretion, composition and functions. *British Dental Journal* 25 (1992), pp. 305–312.
 28. Elnima, E.I. et al. The antimicrobial activity of garlic and onion extracts. *Pharmazie*, Berlin, v.38, n.11, p.747-8, Nov. 1983.
 29. Emilson, C.G. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand J Dent Res*, Copenhagen, v.85, p.255-265, 1977.
 30. Emilson and Westergren, 1979. C.G. Emilson and G. Westergren, Effect of chlorhexidine on the relative proportions of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* in hamster plaque. *Scandinavian Journal of Dental Research* 87 (1979), pp. 288–295.
 31. Emilson, C.G. Emilson, Effect of chlorhexidine gel treatment on *Streptococcus mutans* population in human saliva and dental plaque. *Scandinavian Journal of Dental Research* 86 (1981), pp. 239–246. 1981.
 32. Emilson, C.G. Emilson, Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. *Journal of Dental Research* 73 (1994), pp. 682–691. 1994
 33. Euzabetsky, E. Pesquisas em plantas medicinais. *Ciência e Cultura*, v.39, n.8, p.697-702, Ago. 1997.

34. Fardal and Turnbull, 1986. D. Fardal and R.S. Turnbull, A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *Journal of American Dental Association* 112 (1986), pp. 863–869.
35. FDI: Dental caries; in Hine MK (ed): Epidemiology of Selected Dental Conditions 1950-1963. Bethesda, Fédération Dentaire Internationale, National Library of Medicine.1964.
36. Fernandes Filho, E.S.; Morais, S. M.: preparacao e avaliação clínica do oleo essencial da planta medicinal *Lippia sidoides Cham* (alecrim pimenta) 32:53, 1991. Ver ABO nac. v 06, p 323-325.1998.
37. Frandsen, A. Mechanical oral hygiene practices. *In: Dental plaque control measures and oral hygiene practices*, Oxford: H. Loe & D. V. Kleinman, IRLPress, 1986, p.93-116
38. Gaiao, LF., A saúde bucal do idoso em uma instituição filantrópica de fortaleza , Dissertação de Mestrado em saúde Publica UFC, 2005.
39. Gibbons, R.J., Van Houte, J.V. Dental caries. *Annu. Rev Med*, v.26, p.121-135, 1975.
40. Gilbert L. Social factors and self-assessed oral health in South Africa. *Community Dent Oral Epidemiol* 1994;22:47-51.
41. Girão. V,C,C et Al . Efeito protetor do extrato etanólico de *Lippia sidoides* (Alecrim-Pimenta) nas gengivites marginais de cães. *Ciência Animal*, 11(1): 13-17, 2001.
42. Girão. V,C,C et Al . 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* 59: 2003 95-102.
43. Gisselsson, H., BIRKHED, D., BJORN, A.L. Effect of professional flossing with chlorexidine gel on aproximal caries in 12- to 15- year-old schoolchildren. *Caries Res. Basel*, v.22, p.187-192, 1988.
44. Gramuing, L.G. Dentifrices. *In: Handbook of non-prescription drugs*, Washington: Griffenhagen & Hawkins, Am. Pharm. Ass., 1971, p.116120.
45. Greenstein, G., BERMAN, c., JAFAN, R. Chlorhexidine an adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol. Chicago*, v.57, p.370-377, 1986
46. Gugushe TS. The influence of socio-economic variables on the prevalence of periodontal disease in South Africa. *SADJ* 1998;53(2):41-6.
47. Harris RJ. Untreated periodontal disease: a follow-up on 30 cases. *J Periodontol* 2003;74:672-8.
48. Henessey, T. Some antimicrobial properties of chlorhexidine. *J PeriodQotol Res. Copenhagen*, v.12(suppI12), p.61-67.1973.
49. Heukelbach J, van Haeff E, Rump B, Wilcke T, Moura RC, Feldmeier H. Parasitic skin diseases: health care-seeking in a slum in north-east Brazil. *Tropical Medicine and International Health* 2003;8:368-373.
50. Hugo, W.B., LONGWORTH, A.R. The effect of chlorhexidine on the electrophoretic mobility, cytoplasmic constituents, dehydrogenase activity and cell walls of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J. Pharm Pharmacol. London*, v.18, p.569-578, 1966.
51. Hujoel et al., 2002. P.P. Hujoel, M. Drangsholt, C. Spiekerman and T.A. DeRouen,

- Pre-existing cardiovascular disease and periodontitis: a follow-up study. *Journal of Dental Research* 81 (2002), pp. 186–191.
52. Husain et al., 1992. Husain, A., Virmani, O.P., Popli, S.P., Misra, L.N., Gupta, M.M., Srivastava, G.N., Abraham, Z., Singh, A.K., 1992. Dictionary of Indian Medicinal Plants. Vap Enterprises, New Delhi, pp. 62–63.
 53. Ishida et al., 1983. M. Ishida, N. Nambu and T. Nagai, Highly viscous gel ointment containing carbopol for application to the oral mucosa. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 31 (1983), pp. 4561–4564.
 54. JENKINS, S., ADDY, M., NEWCOMBE, R. The effects of a chlorhexidine toothpaste on the development of plaque, gingivitis and tooth staining. *J. Clin Periodontol*, Copenhagen, v.20, n.1, p.59-62, Jan. 1993.
 55. KIRKERGAARD, E. et al. Influence of chlorhexidine on in vitro uptake of fluoride in dental enamel. *Scand J Dent Res*. Copenhagen, v.82, p.556569, 1974.
 56. Kohler B, Bratthall D: Practical method to facilitate estimation of *Streptococcus mutans* levels in saliva. *J Clin Microbiol* 9: 584-588, 1979.
 57. Köhler B, Pettersson BM, Bratthall D. *Streptococcus mutans* in plaque and saliva and the development of caries. *Scand J Dent Res*. 1981 Feb;89(1):19-25.
 58. Lacoste E, Chaumont JP, Mandin D, Plumel MM, Matos FJA. Antiseptic properties of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. Application to the cutaneous microflora. *Ann Pharm Fr*. 1996;54(5):228-30. French.
 59. Lemos. T.L.G et al. Total assignment of H1 and C-13 NMR spectra of tectol and tecomaquinone I. *Journal magnetic resonance chemistry*, dec. 1999.
 60. Leard, a., Addy, M. The propensity of different brands of tea and coffee to cause staining associated with chlorhexidine. *J Clin Periodontol*. Copenhagen, v.24, n.2, p.115-118, Feb. 1997
 61. Lindhe, J. et al. Long term effect of surgical/non surgical treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. Copenhagen, v.11, p.448-58, 1984.
 62. Lindquist, B. et al. Effect of different caries preventive measures in children highly infected with mutans streptococci. *Scand J Dent Res*, Copenhagen, v.97, p.330-337, 1989.
 63. Loe H. The role of local factors in the etiology of periodontal diseases. *Periodontol* 2000 2:83, 1993.
 64. Loesch, W.J. et al. Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. *Infect Immun*. Washington, v.11, p.1252-1260, 1975.
 65. Loesche, W.J., 1984. Antimicrobials. Can they be effective? In: Guggenheim, B. (Ed.), *Cardiology Today*. Karger, Basel, pp. 293–300. 1984
 66. Luodal, A. et al. Combined effect of subgingival scaling and controlled oral hygiene on the incidence of gingivitis. *Acta Odontol Scand*. Oslo, v.19, p.537-555, 1961.
 67. Matos. F.J.A, Viana G.S.B, Bandeira M.M, Guia Fitoterápico. Ceará. Governo do Estado do Ceará; 2001
 68. McChesney, W.J. Matos., F.J.A., Lemos. T.G. Antimicrobial activity of the essential oil of Brazilian plants., *Phytotherapy Research* pp346-491990
 69. McDougall, 1963. H.A. McDougall, Studies on the dental plaque. The histology of

- dental plaque and its attachment. *Australian Dental Journal* 8 (1963), pp. 261–265.
70. Melsen, B. On the mechanism of the plaque inhibitions by chlorhexidine. *J Dent Res*, Washington, v.54, p.1357-1362, 1975.
 71. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Programas Especiais de Saúde. Divisão Nacional de Saúde Bucal. Levantamento epidemiológico em saúde bucal: Brasil, zona urbana, 1986. Brasília (DF); Centro de Documentação do Ministério da Saúde; 1988.
 72. Ministério da Saúde – Governo Federal Programa de Saúde Bucal - SB BRASIL 2004 3:6, 2004.
 73. Moraes, M.O et al. Avaliação clínica da eficácia e segurança de fitoterápicos no Brasil. *Arquivos Brasileiros de Fitomedicina Científica* 30-38: Vol 1, maio 2003
 74. Natalie et al., 1999. J. Natalie, W.H. Dough, J. Michael, Rathbone, D.S. Jones and I.G. Tucker, Local delivery of chlorhexidine using a tooth-bonded delivery system. *Journal of Controlled Release* 61 (1999), pp. 337–343.
 75. Netuschil, L., REICH, E., BRECX, M. Direct measurement of the bactericidal effect of chlorhexidine on human dental plaque. *J Clin Periodontol*, Copenhagen, v.16, p. 484-488, 1989.
 76. Netuschil, L. et al. Plaque bacteria counts and vitality during chlorhexidine, meridol and listerine mouthrinses. *Eur J Oral Sei*, v.103, n.6, p. 355-361, Dec. 1995.
 77. OWENS, J. et al. A short-term clinical study design to investigate the chemical plaque inhibitory properties of mouthrinses when used as adjuncts to toothpastes: applied to chlorhexidine. *J Clin Periodontol*, Copenhagen, v.24, n.10, p.732-737, Oct. 1997.
 78. Pai MR, Acharya LD, Udupa N Evaluation of antiplaque activity of *Azadirachta indica* leaf extract gel--a 6-week clinical study. *J Ethnopharmacol*. 2004 Jan;90(1):99-103.
 79. Parida et al., 2002. M.M. Parida, C. Upadhyay, G. Pandya and A.M. Jana, Inhibitory potential of neem (*Azadirachta indica* Juss) leaves on Dengue virus type-2 replication. *Journal of Ethnopharmacology* 79 (2002), pp. 273–278.
 80. Patel and Venkatakrishna, 1988. V.K. Patel and B.H. Venkatakrishna, Folklore therapeutic indigenous plants in periodontal disorders in India (review). *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutic Toxicology* 26 (1988), pp. 176–184.
 81. Peterson CG: Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. *J Dent Res* 1994;73:682-691
 82. Poulton R, Caspi A, Milne BJ, Thomson WM, Taylor A, Sears MR, et al. Association between children's experience of socioeconomic disadvantage and adult health: a life-course. *Lancet* 2002; 23: 1619-20.
 83. Prêmio Estímulo Kolynos 1991 Botelho. M.A. Os produtos naturais como antissépticos e dentifrícios alternativos- Anakol Industria e Comércio Ltda - White Hall Laboratories - São Paulo – SP 1992.
 84. PUCHER, JJ., DANIEL, J.c. The effects of chlorhexidine digluconate on human fibroblasts *in vitro*. *J Periodontol*. Chicago, v.63, n.6, p.526-532, Jun. 1992.
 85. Ramacciato, J.C. et al. Efeito da *Melaleuca altemifolia* sobre estreptococos e *Staphylococcus aureus*. In: 16º Reunião Anual de Sociedade Brasileira de Pesquisa

- em Odontologia, 1999, Águas de São Pedro. Anais... Águas de São Pedro: SBPQO, 1999, p.10.
86. RAMBERG, P. et al. A model for studying the effects of mouthrinses on de novo plaque formation. *J Clin Periodontol*. Copenhagen, v.19, n.7, p.509-20, Aug. 1992
 87. Randhawa and Parmar, 1996. Randhawa, N.S., Parmar, B.S., 1996. *Neem*, second ed. New age International Pvt. Ltd. Publishers, India, pp. 77–111.
 88. Rao et al., D.V.K. Rao, I. Sing, P.C. Chopra, Chhabra and G. Ramanujalu, In vitro antibacterial activity of neem oil. *Indian Journal of Medical Research* 84 (1986), pp. 314–316. 1986
 89. Renton-Harper, P. et al. A comparison of chlorhexidine, cetylpyridinium chloride, triclosan, and C31G mouthrinse products for plaque inhibition. *J Periodontol*, Chicago, v.67,n.5, pA86-489, May 1996.
 90. Rolla, G., Löe, H., Schiott; C.R. The affinity of chlorhexidine for hydroxiapatite and salivary mucins. *J Periodontal Res*, Copenhagen , v.5, p.79-83, 1970.
 91. Russel AL. Epidemiology of periodontal disease. *Int Dent J* 17:282, 1967.
 92. Scannapieco FA, Levine MJ. Saliva and dental pellicles. In Genco RJ, Goldman HM, Cohen DW, eds. *Contemporary Periodontics*. St Louis, CV Mosby, 1990.
 93. Schaeken, MJ.M. et al. Effect of chlorhexidine and iodine on the composition of the human dental plaque flora. *Caries Res*, Basel, v.18, pAOI-407, 1984.
 94. Schaeken MJM, Vanderhoeven LS, Franken HCM: Comparative recovery of *Streptococcus mutans* on five isolation media, including a new simple selective medium. *J Dent Res* 65: 906-908, 1986.
 95. Schei O, Waerhaug J, Lovdal A, Aron A. Alveolar bone loss as related to oral hygiene and age. *J Periodontol* 30:7, 1959
 96. Sennel et al., 2000. S. Sennel, G. Ikinici, S. Kas, R.A. Yousefi, M.F. Sargon and A.A. Hincal, Chitosan films and hydrogels of chlorhexidine gluconate for oral mucosal delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 193 (2000), pp. 197–203.
 97. Silness and Loe, 1964. J. Silness and H. Loe, Periodontal in children. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontologica Scandinavica* 22 (1964), pp. 121–135.
 98. Silva, ASL., Cárie e Condicionantes Sociais do Processo Saúde doença em escolares de 12 anos do Pici, Fortaleza-Ceará. Dissertação de Mestrado em Saúde Pública – UFC. 1999.
 99. Socransky SS, Haffajee AD. Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal diseases: A critical assessment. *J Periodontal Res*. 26:195,1991.
 100. Socransky SS, Manganiello AD, Prapas D, et al. Bacteriological studies of developing supragingival dental plaque. *J Periodont Res* 12:90, 1977
 101. Slots J, Rams TE. Microbiology of periodontal disease. In Slots J, Taubman.M.A, eds. *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*. St Louis, CV Mosby, 1992.
 102. Suomi, J.D. et al. The effect of controlled oral hygiene procedures on the progression of periodontal disease in adults: results after third and final year. *J Periodontol*, Chicago, vA2, p.152-160, 1971.

103. Tanner ACR, Haffer C, Bratthall GT, et al. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J Clin Periodontol* 6:278, 1979.
104. Vanka A, Tandon S, Rao SR, Udupa N, Ramkumar P. The effect of indigenous Neem *Azadirachta indica* [correction of (*Adirachta indica*)] mouth wash on streptococcus mutans and lactobacilli growth. *Indian J Dent Res*. 2001 Jul-Sep;12(3):133-44. Erratum in: *Indian J Dent Res* 2001 Oct-Dec;12(4):193.
105. Venugopal T, Kulkarni VS, Nerurker RA, Damle SG, Patnekar PN. Epidemiological study of dental caries. *Indian Journal of Pediatrics* 1998;65:883-889.
106. Walsh, L.J., Longstaff, J. The antimicrobial effects of an essential oil on selected oral pathogens. *Periodontologv*, v.8, p.11-15, 1987.
107. Wells, f.v., Lubowe, I. I. *Cosmetics and the skin*. New York, Reinhold Publishing Corp, 1974.
108. World Health Organization . Petersen E.P. World map on dental caries, 12 years, July-2003.
109. World Health Organization. *Oral health surveys: basic methods*. 4th ed. Geneva: WHO; 1997
110. WILLIAMS, L.R. Antimicrobial activity of oil of melaleuca (tea tree oil). Its potential use in cosmetics and toiletries. *Cosmet Aerosols ToU Aust*, vA, nA, p.12-22, 1990.
111. Wolinsky LE, Mania S, Nachnani S, Ling S. The inhibiting effect of aqueous *Azadirachta indica* (Neem) extract upon bacterial properties influencing in vitro plaque formation. *J Dent Res*. 1996 Feb;75(2):816-22.
112. ZICKERT, L., EMILSON, C. G., KRASSE, B. Correlation of levels and duration of *Streptococcus mutans* infection with incidence of dental caries. *Infect Immun*, Washington, v.39, p.982-985, 1983.

Anexo 1:

9. Artigo