

**VITOR HUGO FARINA**

**EFEITO DAS PLANTAS MEDICINAIS *Curcuma zedoaria* E *Camellia sinensis* NO CONTROLE DA HALITOSE**

**Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Biopatologia Bucal.**

**VITOR HUGO FARINA**

**EFEITO DAS PLANTAS MEDICINAIS *Curcuma zedoaria* E *Camellia sinensis* NO CONTROLE DA HALITOSE**

**Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Biopatologia Bucal.**

**Orientadora Profa. Dra. Adriana Aigotti Haberbeck Brandão**

**São José dos Campos**

**2007**

Apresentação gráfica e normalização de acordo com:

Bellini AB. Manual para elaboração de monografias: estrutura do trabalho científico. São José dos Campos: FOSJC/UNESP, 2006.

Farina, Vitor Hugo

Efeito das plantas medicinais *Curcuma zedoaria* e *Camellia sinensis* no controle da halitose / Vitor Hugo Farina; orientadora Adriana Aigotti Haberbeck Brandão. São José dos Campos, 2007.

100p. ; IL.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Odontologia, área de Concentração em Biopatologia Bucal) - Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2007.

1. Biopatologia bucal – 2. Halitose – 3. Enxaguatórios fitoterápicos.

## AUTORIZAÇÃO

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

São José dos Campos, 12 / 06/ 2007

Assinatura:

E-mail: odontofarina@uol.com.br

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Farina VH. Efeito das plantas medicinais *Curcuma zedoaria* e *Camellia sinensis* no controle da halitose. 100f. [Dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP; 2007.

São José dos Campos, 30 de julho de 2007

### Banca examinadora

1) Prof.(a).Dr.(a)

Olinda Tárzia, professora da disciplina de bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.

2) Prof.(a).Dr.(a)

Janete Dias Almeida, professora assistente da disciplina de semiologia do departamento de biociências e diagnóstico bucal da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista.

3) Prof.(a).Dr.(a)

Adriana Aigotti Haberbeck Brandão, professora assistente da disciplina de patologia do departamento de biociências e diagnóstico bucal da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista.

## DEDICATÓRIA

À minha família, na pessoa de minha esposa Beatriz e filhas Laura e Elisa, por todo apoio e incentivo que me deram, além da compreensão nos momentos de minha ausência.

Aos meus pais Jayme e Henory, por seus muitos esforços e lutas para que eu pudesse trilhar meus próprios caminhos.

Aos meus sogros Hélio e Lúcia, por todo estímulo e apoio presentes em todos os momentos.

## HOMENAGEM E AGRADECIMENTO

À Professora Doutora Adriana Aigotti Haberbeck Brandão, pelo acolhimento carinhoso, pela determinação e competência na orientação deste trabalho pioneiro na instituição, pelo incentivo, por suas sugestões e disponibilidade em todos os momentos, o meu muito obrigado.

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A todos que gentilmente aceitaram participar deste estudo como voluntários, sendo alunos da graduação, colegas da pós-graduação, funcionários da faculdade, professores, colegas de trabalho e amigos, pela convivência harmoniosa e disponibilidade exemplar.

Sem a colaboração de cada um de vocês este trabalho não teria se realizado.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na pessoa do Diretor da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos Professor Doutor Paulo Vilela Santos Júnior pela oportunidade da realização do curso de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal.

À Professora Doutora Rosilene Fernandes da Rocha, pela disponibilidade, atenção, apoio e sugestões durante as fases experimentais do trabalho.

Ao Professor Doutor Luiz Eduardo Blumer Rosa, pelo incentivo inicial, que foi fundamental para que eu pudesse chegar até aqui.

À Professora Doutora Yasmin Rodarte Carvalho, pelo seu profundo conhecimento e disposição em transmiti-los em vários momentos deste curso.

À Professora Doutora Maria Nadir Gasparoto Mancini, pela inestimável colaboração com importantes conceitos bioquímicos, que auxiliaram no esclarecimento de tantas dúvidas.

À Professora Doutora Janete Dias Almeida, presente em meus primeiros passos neste curso, por sua ajuda e orientação tão valiosas.

Ao Professor Doutor Luiz Antonio Guimarães Cabral, que foi capaz de transmitir tanto em tão pouco tempo, por seu empenho e disposição em ensinar.

Ao Professor Ivan Balducci, pelo gentil trabalho de elaboração da análise estatística e gráficos dos resultados deste estudo.

À bibliotecária Ângela de Brito Bellini, pela competência e disponibilidade na revisão deste estudo.

A todos os funcionários da biblioteca, que pacientemente colaboraram com o levantamento bibliográfico deste trabalho.

“A glória de Deus é encobrir as coisas; a glória dos reis é investigá-las”.

Provérbios (25, 2).

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS .....	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	13
RESUMO.....	14
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	20
2.1 Bases biológicas para a origem da halitose.....	20
2.1.1 Microrganismos.....	23
2.2 Modelo do desafio da cisteína.....	26
2.3 Medição dos CSV.....	27
2.4 Tratamento da halitose.....	29
2.4.1 Enxaguatórios bucais.....	32
2.4.2 Clorexidina.....	34
2.4.3 Enxaguatórios fitoterápicos.....	37
2.4.4 <i>Camellia sinensis</i> .....	39
2.4.5 <i>Curcuma zedoaria</i> .....	42
3 PROPOSIÇÃO.....	46
4 MATERIAL E MÉTODO.....	47
4.1 Grupo experimental.....	47
4.2 Substâncias testadas.....	48
4.3 Geração de CSV .....	51
4.4 Monitor de enxofre.....	52
4.5 Dinâmica dos testes.....	54
5 RESULTADOS.....	57
6 DISCUSSÃO.....	63
7 CONCLUSÃO.....	77

REFERÊNCIAS.....	78
APÊNDICE A . .....	93
APÊNDICE B .....	94
ANEXO.....	99
<i>ABSTRACT</i> .....	100

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	- <i>Curcuma zedoaria</i> .....	48
FIGURA 2	- <i>Curcuma zedoaria</i> .....	49
FIGURA 3	- <i>Camellia sinensis</i> .....	49
FIGURA 4	- <i>Camellia sinensis</i> .....	50
FIGURA 5	-Fluimucil.....	52
FIGURA 6	- Halímetro .....	53
FIGURA 7	- Medição dos CSV.....	55
FIGURA 8	- Gráfico após 1 minuto.....	58
FIGURA 9	- Gráfico após 90 minutos.....	60
FIGURA 10	- Gráfico após 180 minutos .....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Tabela da estatística descritiva após 1 minuto.....	58
Tabela 2- Formação de grupos homogêneos após 1 minuto.....	59
Tabela 3 - Tabela da estatística descritiva após 90 minutos .....	59
Tabela 4- Formação de grupos homogêneos após 90 minutos.....	60
Tabela 5- Tabela da estatística descritivas após 180 minutos.....	61
Tabela 6- Formação de grupos homogêneos após 180 minutos.....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BANA	=	Benzoil-DL-Arginina-2-Naftilamina
C	=	Catequina
COV	=	Compostos Orgânicos Voláteis
CSV	=	Compostos Sulfurados Voláteis
EC	=	Epicatequina
ECG	=	Epicatequina galato
EGC	=	Epigalocatequina
EGCG	=	Epigalocatequina galato
Eh	=	Potencial de oxidoredução
GC	=	Galocatequina
NT	=	Necessidade de Tratamento

Farina, VH. Efeito das plantas medicinais *Curcuma zedoaria* e *Camellia sinensis* no controle da halitose 100f. [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2007.

## RESUMO

A halitose é uma condição bucal freqüente de difícil tratamento. Os Compostos Sulfurados Voláteis (CSV) são os principais gases responsáveis pela sua formação. Nesta pesquisa avaliou-se o efeito da fitoterapia sobre o controle da halitose, medindo os CSV através de um halímetro, após o tratamento proposto. Foram testadas duas plantas que têm sido popularmente empregadas para tal: a *Curcuma zedoaria* e a *Camellia sinensis*. As plantas foram preparadas sob a forma de extrato aquoso e utilizadas como enxaguatórios bucais, comparadas a um enxaguatório padrão a base de gluconato de clorexidina a 0,12% e a um enxaguatório placebo (água). O experimento foi realizado com trinta voluntários da FOSJC-UNESP após orientação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Cada paciente compareceu uma vez por semana, durante quatro semanas. Para a padronização do hálito dos participantes foi utilizado o método Cysteine Challenge Model, modificado para este estudo. Foram realizadas quatro medições do hálito, após bochecho com acetilcisteína: uma antes do uso do enxaguatório teste, a segunda logo em seguida ao seu uso, a terceira após 1h30min e a quarta após 3h. Foi mantido um intervalo de pelo menos uma semana entre as diferentes substâncias testadas. Os resultados mostraram que a clorexidina diminuiu a produção de CSV imediatamente e manteve esse efeito por até 3 horas, enquanto as duas plantas testadas apresentaram efeito semelhante ao placebo. Concluiu-se então que a *Curcuma zedoaria* e a *Camellia sinensis*, preparadas sob a forma de infusão e usadas como enxaguatório bucal, não apresentaram efeito na neutralização de CSV.

**PALAVRAS CHAVE:** halitose, fitoterapia, plantas medicinais, *Curcuma zedoaria*, *Camellia sinensis*, enxaguatório bucal, clorexidina, CSV – Compostos Sulfurados Voláteis, halímetro.

## 1 INTRODUÇÃO

A preocupação do ser humano com o hálito vem de tempos remotos. Existem relatos na literatura antiga que mencionam situações desagradáveis relacionadas ao mau hálito, como comentam Sanz et al.<sup>83</sup> sobre os escritos litúrgicos hebraicos (Talmud), de mais de 2 mil anos, que estabelecem que os termos de licença de casamento (Ketuba) podem ser quebrados em caso de mau odor de um dos parceiros. O dramaturgo romano Titus Marcius Plautus (254-184 a.C.) menciona o mau hálito como sendo um dos fatores responsáveis pela infidelidade conjugal. Na Bíblia, no antigo testamento, Jó (19.17) se lamenta: “Minha mulher tem horror de meu hálito”. Semelhantes referências podem ser encontradas nos escritos gregos, romanos, dos primeiros cristãos, e das culturas islâmicas<sup>23 e 83</sup>.

Foi somente a partir de 1874, quando Howe\*, citado por Tárzia<sup>91</sup>, descreveu e estudou a halitose, que este mal passou a ser considerado uma entidade clínica.

Nas décadas de 40 e 50 o estudo da halitose obteve um avanço científico quando surgiu o instrumento chamado osmoscópio, que era capaz de medir e identificar as diferentes fontes de mau odor, fossem elas originadas na boca, nasofaringe, ou outras partes do corpo<sup>83</sup>. A partir daí o estudo da halitose se desenvolveu muito, principalmente nas duas últimas décadas, quando o assunto passou a ser objeto de inúmeras pesquisas. O avanço da tecnologia percebido neste período foi outro fator determinante para o seu desenvolvimento, com o surgimento de aparelhos eletrônicos capazes de detectar diferentes odores.

---

\*Howe JW. The breath and the diseases which give it a fetid odor. New York: s. n., 1874. p.7-8.

Segundo Hine<sup>27</sup>, a ciência da olfação não é exata e não existe definição aceitável de odor, porém se conhece o mecanismo pelo qual os odores sensibilizam o olfato humano, como é explicado por Tárzia<sup>91</sup>.

“Os odores são produzidos por pequenas partículas dispersas no ar, capazes de imprimir a sensação olfativa nas células receptoras da cavidade nasal. Estas partículas são conhecidas como odoríferos e apresentam composição e estrutura físico-química variáveis. Para que determinada substância seja capaz de ser percebida pelo olfato ela precisa apresentar duas propriedades importantes: volatilidade e solubilidade em gorduras”.

A adaptação do olfato é um fenômeno que ocorre quando há uma exposição prolongada a um determinado odorífero, tornando o olfato insensível àquele odor. Um paciente com halitose irá se acostumar rapidamente com o odor e, não mais detectá-lo<sup>27</sup>, sendo este fenômeno conhecido como fadiga olfatória.

A palavra hálito, derivada do latim (*halitu*), significa ar expirado, bafo, cheiro da boca, exalação, emanção, cheiro, e no sentido poético viração, aragem. O sufixo *osis* da palavra halitose significa processo mórbido, ou uma alteração patológica<sup>16</sup>. Portanto o termo halitose é usado para designar uma alteração desagradável no odor exalado pela boca, também conhecido por mau hálito<sup>90</sup>.

Pesquisadores têm se interessado por este tema, devido à relação direta com a saúde geral do indivíduo, bem como com as implicações que este mal pode acarretar na vida social, nos relacionamentos interpessoais, na auto-estima, enfim, na qualidade de vida<sup>83</sup>.

Mackeown<sup>49</sup> destaca a importância social da halitose e afirma que:

“A sociedade usa os odores como um meio para definir e interagir com o mundo. A experiência olfatória individual é

íntima, carregada de emoções e nos conecta ao mundo. O cheiro da boca pode conectar ou desconectar uma pessoa dos ambientes sociais e relacionamentos íntimos”.

O mau hálito é principalmente o resultado da ação de bactérias proteolíticas anaeróbicas Gram-negativas que residem nas superfícies dos dentes e língua ou nas bolsas periodontais<sup>12 e 50</sup>. Essas bactérias proteolíticas agem metabolizando aminoácidos, tais como metionina, cistina e cisteína<sup>95</sup>. Como resultado deste metabolismo, ocorre a produção de gases que contém enxofre, chamados compostos sulfurados voláteis (CSV), que são os principais responsáveis pela percepção olfatória do mau hálito<sup>44, 71 e 94</sup>.

Também colaboram para a geração da halitose, em menor proporção, os compostos orgânicos voláteis (COV) derivados da putrefação, como a putrecina, cadaverina, fenóis, indol, escatol, e o hidrocarboneto metano. Além desses, existem os metabólitos de cadeia curta, de baixo peso molecular, que se volatilizam, ganham a corrente sanguínea e são eliminados via pulmonar. São os aminoácidos, os ácidos graxos, compostos nitrogenados (aminas, amônia, uréia), também considerados COV<sup>14</sup>.

Cerca de 90% da halitose é originada na cavidade bucal, onde existem inúmeras bactérias capazes de degradar as proteínas oriundas de alimentos, ou de células mortas que se desprendem do epitélio, ou ainda da própria saliva que permanece depositada sobre a língua e com o tempo sofre fermentação<sup>83 e 94</sup>. Além disso, algumas doenças sistêmicas podem provocar alteração do hálito, como, a insuficiência hepática, insuficiência renal, tuberculose, diabetes, entre outras. A salivagem reduzida, pelos mais variados motivos, também pode fazer piorar o hálito, assim como o tipo de alimentos que a pessoa ingere, o grau de estresse e determinados medicamentos<sup>91</sup>.

Existem formas de tratamento para a halitose de origem bucal, bem como para a halitose de origem extra-bucal ou sistêmica,

sendo importante para o sucesso do tratamento, que seja determinada a causa do mau odor. Seja qual for a origem da halitose, é fundamental que o paciente seja orientado para que pratique uma boa higienização bucal<sup>23</sup>, com o uso de escova de dentes, fio dental e limpador de língua. Se o paciente ainda apresentar halitose após manter uma boa higiene bucal, Morita e Wang<sup>52</sup> aconselham bochechos e gargarejos com enxaguatórios eficientes.

O uso dos enxaguatórios bucais é um dos principais métodos conhecidos para o controle ou redução da flora bacteriana bucal *in vivo*, sendo este método bastante empregado e preconizado por inúmeros profissionais desde o aparecimento de substâncias químicas, como os compostos quaternários de amônia, a clorexidina, o dióxido de cloro, os compostos fenólicos, entre outros.

Existem também inúmeros medicamentos à base de ervas que são popularmente conhecidos e há muito tempo utilizados para o alívio de males como gengivites, aftas, doença periodontal, estomatites, halitose<sup>106</sup>.

Mais recentemente, os medicamentos fitoterápicos têm despertado grande interesse de pesquisadores, que empregam tais substâncias para os mais variados propósitos. O emprego destas substâncias vem da tradição popular e sua origem se perde no tempo.

Procurando aproveitar a sabedoria popular, a proposta deste trabalho foi testar dois produtos fitoterápicos - *Camellia sinensis* e *Curcuma zedoaria*, que têm sido utilizados, entre outras finalidades, para o combate à halitose. Tais ervas carecem, porém, de maiores estudos científicos a respeito de seus mecanismos de ação, princípios ativos e seus reais benefícios sobre o hálito. Apesar da carência de embasamento científico quanto a ação destas plantas sobre o hálito, não são raras as

referências encontradas em sites de fitoterapia\* que freqüentemente apresentam informações genéricas e pouco detalhadas, afirmando com freqüência a ação benéfica destas plantas nos distúrbios do hálito.

Por serem produtos baratos e de fácil acesso à população, decidiu-se pela realização de um estudo mais aprofundado sobre tais fitoterápicos, visando comprovar suas propriedades terapêuticas e, eventualmente, beneficiar uma parcela maior da população que poderia aproveitar suas propriedades farmacológicas com mais segurança, além da vantagem econômica.

Sendo a ação tópica medicamentosa uma das formas de tratamento da halitose, neste trabalho, *Camellia sinensis* e *Curcuma zedoaria* foram utilizadas na forma de enxaguatórios bucais, visando uma possível neutralização da ação de bactérias proteolíticas responsáveis pela formação dos CSV.

---

\*Disponível em: [http://www.plantamed.com.br/ESP/Curcuma\\_zedoaria.htm](http://www.plantamed.com.br/ESP/Curcuma_zedoaria.htm) acesso em:25/11/2005

Disponível em: <http://www.foodnavigator.com/news/ng.asp?id=46771-tea-beats-halitosis> acesso em 3/9/2006

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Bases biológicas para a origem da halitose**

A halitose é uma condição muito freqüente que afeta principalmente a população adulta<sup>94</sup>. O termo halitose em geral é usado para descrever odores desagradáveis ou ofensivos emanados da cavidade bucal, embora outros locais também sejam relacionados, incluindo o trato respiratório superior e inferior, o trato gastrintestinal e algumas doenças envolvendo os rins ou o fígado; porém acredita-se que cerca de 90% de toda halitose tem sua origem na boca<sup>83</sup>.

A halitose é uma condição que gera implicações na saúde e na vida social do indivíduo e representa uma área da ciência oral que abrange aspectos psicológicos e médicos. A halitose é considerada como sendo fisiológica ou patológica. A fisiológica, também conhecida como transitória, tem sua origem no dorso da língua, é auto-limitada, não impede que o paciente tenha uma “vida normal” e normalmente não requer terapia. Esta condição é conhecida como hálito da manhã e representa mais um problema cosmético do que um problema relacionado à saúde<sup>83</sup>.

O hálito da manhã se deve à diminuição do fluxo salivar durante o sono<sup>104</sup>. Essa diminuição de fluxo é acompanhada de putrefação de células epiteliais descamadas que permanecem retidas durante esse período, além da putrefação de outros compostos orgânicos ocasionando um odor desagradável, que desaparece após a higienização bucal e pelo restabelecimento do fluxo salivar aos valores normais<sup>92</sup>.

O estresse é outro fator que provoca diminuição da produção salivar devido a liberação na corrente sangüínea de hormônios como a

adrenalina e o cortisol, que atuam inibindo o funcionamento das glândulas salivares<sup>38</sup>.

Ao contrário, a halitose patológica é permanente, não se resolve pelos métodos usuais de higiene, e não permite que o paciente leve uma “vida normal”<sup>83</sup>.

Dependendo da origem, a halitose patológica é classificada como sendo de origem bucal ou extra bucal; esta última podendo se originar no trato respiratório alto e baixo, sistema digestivo, ou por desordens sistêmicas. Condições sistêmicas como causa de halitose são muito raras, embora sejam importantes e não deveriam ser completamente excluídas ao se lidar com paciente portador de halitose. Tais condições incluem acidose diabética, insuficiência ou infecção hepática, ou trimetilaminúria. Condições relacionadas ao sistema digestivo raramente contribuem para a halitose<sup>83</sup>.

Discorrendo sobre as causas sistêmicas da halitose, Falcão e Vieira<sup>14</sup> explicam que quando ocorre a lentidão ou falência de determinados órgãos, as substâncias ingeridas não são adequadamente metabolizadas, o que origina derivados metabólicos que são transportados pela circulação sangüínea, como amônia, uréia, creatinina e derivados da queima de ácidos graxos como ácido butírico, propiônico e valérico e que são eliminados pela respiração.

Os estudos de Tonzetich<sup>95, 96 e 97</sup> com saliva mostraram fortes evidências de que os CSV, representados por sulfidreto, metilmercaptana, dimetilsulfeto são os componentes odoríferos de maior importância na halitose, contradizendo a tradicional crença de que as aminas voláteis, cadaverina e trimetilamina, além dos produtos metabólicos do triptofano, indol e escatol, são os principais componentes odoríferos.

Por outro lado, os compostos indólicos como o indol e o escatol são substâncias menos voláteis e provavelmente se aderem às superfícies epiteliais, prorrogando assim o mau odor por extensos períodos de tempo<sup>36</sup>.

Os compostos voláteis mais abundantes detectados na cavidade bucal são sulfidreto ( $H_2S$ ) e metilmercaptana ( $CH_3SH$ ), com odor pútrido. O dimetilsulfeto ( $(CH_3)_2S$ ) também foi identificado, em menores proporções<sup>93</sup>. Substratos que possuem grupos tióis livres, como a cisteína, representam as mais imediatas fontes de mau odor. Aparentemente os precursores que contêm enxofre se submetem a redução fornecendo grupos tióis, que por sua vez são metabolizados a CSV. A mera presença de aminas e indóis, que emanam um odor desagradável em estado puro, não garante as mesmas características quando presentes na saliva, *in vivo*, devido provavelmente ao pH e condições ambientais da cavidade bucal. Pesa também o fato de serem muito pouco voláteis, não conferindo por este motivo, odor à saliva<sup>94</sup>.

Os ácidos carboxílicos de cadeia curta, ácido butírico, ácido valérico e isovalérico, são prontamente formados quando o pH está acima da neutralidade, ocasião em que a desaminação de aminoácidos e a geração de mau odor rapidamente ocorre. O contrário ocorre quando as aminas são geradas. Elas são produzidas em pH ácido, quando os aminoácidos são descarboxilados<sup>9</sup>.

A halitose ocorre em pH alcalino e neutro, devido ao favorecimento do crescimento de bactérias proteolíticas anaeróbicas, sendo, portanto inibida pela acidez<sup>34 e 50</sup>.

Se a dieta do indivíduo é baseada em carboidratos, a fermentação leva a uma queda do pH tornando-se mais ácido, inibindo a formação de CSV. Se ao contrário, a principal fonte de nutrientes forem proteínas, seu resultado metabólico produz compostos nitrogenados como uréia, aminoácidos livres e aminoácidos derivados de peptídeos ou proteínas, aumentando o pH<sup>36, 50 e 83</sup>.

A uréia, resíduo do catabolismo dos aminoácidos, e que se excreta, principalmente pela urina, também é eliminada na saliva. A urease microbiana hidrolisa a uréia, responsável pelo aparecimento da amônia

(NH<sub>3</sub>) na saliva, que é uma substância básica que eleva o pH salivar. As proteases microbianas hidrolisam as proteínas, produzindo aminoácidos<sup>2</sup>.

### 2.1.1 Microrganismos

A redução da quantidade de microrganismos na cavidade bucal é importante para o controle do mau odor e conseqüentemente, o crescimento bacteriano parece ser crítico para a formação da halitose<sup>6</sup>.

A capacidade de produção de mau odor bucal reside na microflora, pois quando a saliva livre de bactérias é incubada nenhum odor é produzido. Além disso, existem áreas localizadas na boca, como os espaços inter-proximais, onde ocorre estagnação da saliva e produção de mau odor por microrganismos; tal ocorrência não foi observada em áreas de grande fluxo salivar<sup>50</sup>.

Naturalmente nem todos os odores emanados pela boca são causados por microrganismos. Determinados alimentos como cebola, alho, bebidas como o álcool; bem como estados fisiológicos especiais como idade avançada, fome, desidratação, entre outros, podem provocar alteração do hálito<sup>50</sup>.

O mau odor bucal é manifestado pela produção de compostos voláteis através da ação putrefativa de microrganismos em substratos proteínáceos exógenos e endógenos, principalmente epitélio oral exfoliado, proteínas salivares, restos alimentares, e sangue. No processo, as proteínas sofrem proteólise em peptídeos e aminoácidos, que são posteriormente degradados em compostos altamente voláteis e que inferem um odor ofensivo ao hálito<sup>2, 93 e 94</sup>. Entre as fontes mais comuns de proteína para a produção de mau hálito estão principalmente as mucinas salivares e componentes de células epiteliais<sup>36 e 37</sup>.

A flora bacteriana bucal pode variar com a idade do indivíduo e com as condições gerais de saúde<sup>84</sup>, podendo exibir um forte potencial para a produção de odor na presença de substrato apropriado<sup>66</sup>.

O mau hálito de origem bucal é principalmente o resultado da ação de bactérias proteolíticas anaeróbicas Gram-negativas que residem nas superfícies dos dentes e língua ou nas bolsas periodontais e espaços inter-dentais<sup>12, 44, 50 e 66</sup>.

*Treponema denticola* e espécies pigmentadas pretas como *Bacteroides intermedius*, *Bacteroides loescheii*, *Porphyromonas endodontalis* e *Porphyromonas gingivalis* produzem considerável quantidade de metilmercaptana em soro. Muitos membros do gênero *Fusobacterium*, *Selenomonas*, *Bacteroides*, *Veillonella*, *Peptostreptococcus* e *Eubacterium* formam sulfidreto a partir de cisteína. *Treponema denticola* e espécies pigmentadas pretas como *Porphyromonas gingivalis* também formam sulfidreto, mas não da cisteína. Esta característica de *Porphyromonas gingivalis* pode ser explicada pelo fato dela preferir peptídeos à aminoácidos como fonte de nutrientes em seu metabolismo. Também é conhecido que *Porphyromonas gingivalis* degrada proteína do soro e isto pode suprir o organismo com peptídeos para a produção abundante de CSV. *Fusobacterium* usam ambos, aminoácidos e peptídeos em seu metabolismo, porém não formam quantidades significativas de CSV em soro<sup>66</sup>.

Outros aminoácidos, não somente os que contém enxofre, participam na produção de mau hálito, tais como triptofano, ornitina, e em menor proporção a arginina, um possível precursor da ornitina em algumas bactérias, em função da via arginina desaminase<sup>36</sup>.

A bolsa periodontal é um ambiente ideal para a produção de CSV, principalmente metilmercaptana<sup>56</sup>, devido ao perfil bacteriano existente e a presença de substrato contendo enxofre. A presença de CSV nestes locais acelera a destruição do periodonto, podendo explicar porque pacientes com doença periodontal frequentemente reclamam de mau odor bucal<sup>52 e 71</sup>.

Bactérias relacionadas com a doença periodontal e produtoras de odor incluem: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Actinobacillus actinomycetencomitans*, *Fusobacterium nucleatum*<sup>39</sup>, *Campylobacter rectus*, *Peptostreptococcus micros*, *Tannerella forsythensis*, espécies do gênero *Eubacterium* e espiroquetas<sup>70</sup>.

A prevalência de espécies da família *Enterobacteriaceae* na cavidade bucal de portadores de prótese total foi elevada, quando comparada a outros grupos populacionais, o que levou Goldenberg et al.<sup>21</sup> a ponderarem sobre a possibilidade destas bactérias contribuírem para a halitose típica dos portadores de prótese total.

A putrefação microbiana na língua é um importante fator de desenvolvimento da halitose. Bactérias BANA positivas como *Actinobacillus actinomycetencomitans*, *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* localizadas na língua, saburra lingual e fissuras profundas estão todas associadas com a formação da halitose. Os anaeróbicos Gram-negativos e a flora assacarolítica exercem um essencial papel na formação da halitose<sup>12, 36, 44, 47, 74</sup>.

Em um estudo onde foi analisado o efeito de um novo enxaguatório Roldan et al.<sup>75</sup> observaram que as espécies bacterianas mais prevalentes na saburra lingual e saliva foram *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* e *Porphyromonas gingivalis*. Por outro lado *Bacteroides forsythus* e *Campylobacter rectus* foram encontrados somente em amostras de placa subgingival. Houve significativa correlação entre escores organolépticos e a presença de *Prevotella intermedia* na saburra lingual.

## 2.2 Modelo do Desafio da cisteína

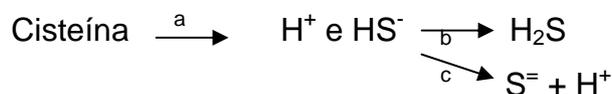
Os aminoácidos cisteína, cistina, metionina, triptofano, ornitina e lisina, a maioria obtida por hidrólise de proteínas e peptídeos na saliva, são a fonte primária de mau odor bucal<sup>34</sup>. A cisteína representa a maior proporção dos aminoácidos que geram compostos odoríferos que compõem o mau hálito<sup>94</sup>. Este composto tem duplo papel nos processos de putrefação e geração de mau odor: primeiro porque é rapidamente degradado pelas bactérias bucais para produzir sulfidreto<sup>35 e 112</sup>; segundo, porque o sulfidreto quando ionizado contribui mais para abaixar o potencial de oxidação-redução (Eh) do que qualquer um dos 20 aminoácidos mais comuns. Tal redução é essencial para a putrefação e para que o processo de produção de mau odor se desenvolva<sup>35</sup>.

O mau hálito pode ser artificialmente criado pelo modelo de desafio da cisteína de Kleinberg e Codipily<sup>34</sup>, que consiste em bochechos com solução aquosa de L-cisteína 6 mM. Os bochechos com cisteína proporcionam a formação principalmente de sulfidreto e em algumas ocasiões pequenas quantidades de metilmercaptana podem ser produzidas<sup>99 e 114</sup>. No desafio da cisteína, os CSV são rapidamente produzidos pelas bactérias orais, imediatamente após o bochecho por 30s com 5ml de L-cisteína 6 mM<sup>34, 99 e 112</sup>.

A observação de que a transformação de cisteína em CSV é dependente do pH indica que a reação é enzimática. Além disso, o fato da cisteína produzir mais CSV do que outros aminoácidos se deve à característica própria de ser um melhor substrato, representado por um grupo sulfidrila associado a um aminoácido único<sup>99</sup>.

A base do desafio da cisteína está apoiada em dois aspectos fundamentais do processo de formação do mau odor. Um é que quando ocorre a quebra da cisteína pelas bactérias bucais, o sulfidreto torna-se fácil de ser mensurado, o que facilita estudos quantitativos rápidos de vários aspectos da geração do mau hálito intra-bucal. Da

mesma forma a quantidade de bactérias presentes pode ser avaliada de acordo com a resposta após o bochecho com cisteína. Um segundo aspecto é que a cisteína e seu precursor a cistina<sup>59</sup> é o principal aminoácido responsável pela diminuição do Eh, que por sua vez é o primeiro fator físico-químico que favorece o crescimento e a habilidade de bactérias anaeróbias Gram-negativas realizarem putrefação e geração de mau odor. O catabolismo da cisteína pelas bactérias Gram-negativas produz:



a)  $\text{H}^+ + \text{HS}^-$  em solução, que por sua vez produz; b)  $\text{H}_2\text{S}$ ; e /ou c)  $\text{S}^{=} + \text{H}^+$ . Os passos a e c causam diminuição do Eh pela presença de  $\text{HS}^-$  e  $\text{S}^{=}$ . O  $\text{H}^+$  e o  $\text{HS}^-$  do passo (a) podem se associar e formar  $\text{H}_2\text{S}$ , passo (b), que é parcialmente perdido pela alta volatilidade e por ser pouco solúvel em água<sup>35</sup>. A reação parece estar associada mais a microrganismos localizados na língua e regiões interproximais dos dentes, do que com microrganismos ou enzimas solúveis na saliva<sup>99</sup>.

O método do desafio da cisteína mostra-se versátil no estudo dos aspectos da formação do mau hálito *in vivo* e nos testes preliminares de novos produtos contra o mau odor, principalmente antes dos testes clínicos mais dispendiosos<sup>20, 34 e 35</sup>.

### 2.3 Medição dos CSV

Métodos de medição do mau odor têm sido propostos por vários autores. A cromatografia gasosa, a avaliação organoléptica e os monitores de enxofre são ferramentas freqüentemente utilizadas para a medição do mau hálito na maioria dos estudos<sup>22, 61 e 88</sup>. Além desses

métodos ainda temos o crio osmoscópico e culturas de exsudato de bolsas periodontais, sendo estes dois de difícil aplicação, além de onerosos<sup>77</sup>. Tanto a cromatografia gasosa quanto a avaliação organoléptica são abordagens tecnicamente difíceis, demandam muito tempo e não são viáveis para medições quantitativas em larga escala<sup>78</sup>.

A utilização de um monitor portátil de enxofre para a determinação de halitose foi primeiramente descrita por Rosenberg et al.<sup>78</sup>. Trata-se de um detector eletro-químico de CSV, que contém um sensor voltamétrico que capta amostras de ar do interior da boca através de um eletrodo eletrocatalítico, operando em um potencial de +0,5V, valor suficiente para assegurar a completa oxidação de tióis doadores de electrons, tais como metilmercaptana e sulfidreto. Tais reações eletrolíticas geram uma corrente elétrica de magnitude diretamente proporcional à concentração de CSV quimicamente reduzidas. Esta corrente é convertida para volts, que por sua vez é transferida para uma medida em níveis de CSV em partes por bilhão (ppb). Medidas feitas com este aparelho têm se mostrado mais fáceis de serem reproduzidas do que aquelas obtidas pelo método organoléptico e mais sensíveis à pequenas diminuições comuns quando se testam produtos para halitose. Além disso, existem outras vantagens, como baixo custo operacional e maior rapidez nas medições<sup>77, 78 e 92</sup>.

Nos estudos de Rosenberg et al.<sup>77</sup> e Codipilly et al.<sup>9</sup> foi constatado grande concordância entre a determinação organoléptica de odores da saliva e as medições pelo halímetro.

O monitor de enxofre detecta principalmente sulfidreto. Outros CSV como dimetilsulfeto e metilmercaptana são também detectados, porém a sensibilidade a estes gases é 50% menor (Interscan)\*. Os estudos de Rosenberg et al.<sup>77</sup> e Pratten et al.<sup>69</sup> mostraram que o halímetro é capaz de reproduzir com eficácia medidas tomadas em momentos

diferentes. É capaz também de acusar a redução dos CSV após tratamento com clorexidina, e concluíram que o uso de um aparelho simples como o halímetro torna fácil e prático o processo de medição de CSV.

Comparando os diferentes métodos de medição dos CSV, Oho et al.<sup>61</sup> constataram uma significativa correlação entre o método organoléptico, a cromatografia gasosa e o monitor de enxofre portátil.

Foi constatado que algumas substâncias como o álcool, presente em alguns enxaguatórios, e o cigarro, interferem na leitura do halímetro<sup>86</sup>.

## **2.4 Tratamento da halitose**

A halitose é um problema que preocupava os antigos e continua preocupando os povos modernos. Atualmente existe um grande interesse pela estética e pela imagem pessoal, incluindo a saúde bucal. Conseqüentemente, a tendência da odontologia moderna é voltar-se para a prevenção das doenças bucais e, para tanto, o cirurgião dentista deve estar capacitado para atuar em benefício do paciente, conduzindo-o a um restabelecimento físico e social<sup>1</sup>.

Atualmente a halitose afeta populações variadas e estimativas levam a crer que cerca de um quarto da população mundial sofra deste mal, sendo que a maioria das pessoas apresenta os sintomas esporadicamente<sup>45 e 51</sup>.

A halitose pode se manifestar com vários graus de intensidade e com etiologia variada<sup>6</sup>, podendo ser provocada por causas bucais e/ou por causas não bucais, sendo o tratamento obtido mediante o afastamento dessas causas<sup>23</sup>.

Existem métodos para a redução da halitose, porém com efetividade variada. Estes métodos podem ser mecânicos, como escovação, limpeza de língua, ou químicos, como a utilização de bochechos com enxaguatórios<sup>6 e 60</sup>.

A escovação, o fio dental e a limpeza periódica da língua são imperativos quando se trata de halitose de origem bucal. Assim sendo, Albuquerque et al.<sup>1</sup> consideram os métodos mecânicos de raspagem de língua e eficiente escovação após as refeições, os mais indicados para o combate da halitose, além de prevenir cárie e doença periodontal.

Analisando a relação entre a halitose bucal e bactérias produtoras de CSV, Krespi e Rosenberg<sup>39</sup> afirmam que o problema pode ser abordado com sucesso com a combinação de limpeza mecânica da língua, por meio de escova ou de limpadores linguais, como também pelo uso de agentes químicos variados, presentes nos enxaguatórios, que têm se mostrado eficazes na redução dos CSV.

Maneiras de organizar a classificação dos diferentes tipos de halitose têm sido propostas, com diferentes protocolos de tratamento adequados a cada categoria. A classificação da halitose por categoria inclui a halitose genuína, a pseudo-halitose e a halitofobia. A halitose genuína é dividida em fisiológica ou patológica. Se o mau odor não existe, mas o paciente acredita que o possui, o diagnóstico seria pseudo-halitose. Se após o tratamento de uma halitose genuína ou pseudo-halitose, o paciente ainda acredita ter o problema, o diagnóstico seria halitofobia, permitindo desta forma a identificação de uma condição psicológica<sup>54 e 108</sup>.

Diferentes necessidades de tratamento (NT) têm sido descritas para as várias categorias de halitose diagnosticadas. As halitoses fisiológicas, patológicas bucais e pseudo-halitose são tratadas pelo profissional dentista. Contudo as halitoses patológicas extra-bucais e

a halitofobia devem ser conduzidas por um médico especialista e por um psiquiatra ou psicólogo, respectivamente<sup>10, 72 e 89</sup>.

Para as diferentes categorias de halitose existem NT básicas, comum a todas. Alguns procedimentos incluem<sup>45 e 92</sup>.

- a) instrução de higiene oral, reforçando as técnicas de escovação, uso de fio dental e higiene das próteses;
- b) intervenção mecânica com raspagem e polimento radicular, inclusive no interior das bolsas periodontais, limpeza de língua;
- c) intervenção química com o uso de enxaguatórios;
- d) orientação quanto à dieta;
- e) acompanhamento freqüente.

A orientação de dieta é voltada para o controle do consumo de alimentos odoríferos<sup>45 e 101</sup>, além do uso de recursos que estimulem a salivação, como chicletes, vegetais e legumes mais fibrosos, além da ingestão de bastante líquido<sup>45 e 92</sup>.

Um completo histórico médico é mandatório para a identificação de condições sistêmicas que podem contribuir para o mau hálito<sup>5</sup>. Nos casos em que há suspeita de origem sistêmica ou extra-bucal, os dentistas podem ajudar o paciente dando orientações quanto a higiene bucal, bem como a indicação de um médico<sup>45 e 101</sup>.

Com relação à halitose de origem psicogênica, o procedimento inclui discussão da situação com o paciente, sendo a medição do hálito com o halímetro muito útil para demonstrar que a halitose pode ou não estar presente<sup>45</sup>.

O tratamento da halitose é eficaz nos casos de halitose fisiológica ou halitose patológica, porém pode ser ineficaz nos casos de halitofobia. Por este motivo um questionário é útil para a identificação de pacientes com uma condição psicológica<sup>107</sup>.

Em suas recomendações sobre o tratamento da halitose Yaegaki et al.<sup>109</sup> orientam a todos os pacientes, inclusive àqueles diagnosticados com halitose patológica extra-bucal, ou halitofóbicos, a praticar os procedimentos de higienização básicos que deveriam ser ensinados por todos os dentistas. Eles consideram este procedimento o tratamento mais importante para a halitose, sendo que a limpeza de língua e o uso de enxaguatórios fazem parte desse protocolo.

#### 2.4.1 Enxaguatórios bucais

O uso de enxaguatórios bucais na prática da medicina oral tem se mostrado efetivo no controle de doenças comuns como aftas, candidíase, líquen plano, entre outras<sup>115</sup>.

Em virtude de deficiências demonstradas pela população em geral no controle mecânico de placa, Gults et al.<sup>24</sup> e Pistorius et al.<sup>67</sup> afirmam que os agentes antibacterianos que complementam a escovação podem ser um auxílio desejável para um controle mais efetivo de placa.

Devido à grande contribuição dos CSV na formação da halitose<sup>93 e 97</sup>, muitos estudos de produtos destinados ao combate deste mal têm se voltado para uma maneira de inibir a produção dos CSV<sup>9</sup>.

O uso dos enxaguatórios bucais é uma prática comum de higiene conhecida desde os tempos antigos. Tais produtos são usados em associação ou como suporte para outras formas de tratamento preventivo, incluindo o tratamento periodontal<sup>71</sup>. Certamente, a maior parte do uso dos enxaguatórios é para o combate à halitose<sup>19</sup>; contudo, a

eficácia dos enxaguatórios na halitose bucal ainda não está clara, uma vez que o número de experimentos clínicos é escasso<sup>47 e 104</sup>.

Enxaguatórios comerciais têm sido usados no tratamento da halitose e, embora, alguns desses produtos meramente mascaram o mau odor, o objetivo principal é controlar o hálito reduzindo os microrganismos responsáveis e evitando o crescimento de patógenos oportunistas<sup>75</sup>.

A maioria dos produtos comerciais promete eliminar o mau hálito; no entanto, eles apenas mascaram o problema pelo uso de flavorizantes diluídos em álcool, agindo assim frequentemente como um alívio temporário, mais do que uma cura permanente<sup>5</sup>. Por outro lado Quirynen<sup>70</sup> afirma que os enxaguatórios somente são efetivos contra a halitose provocada por fatores intra-bucais. Quanto à presença de álcool nos enxaguatórios, Pereira et al.<sup>65</sup> e Rosenberg<sup>76</sup>, afirmam que colutórios contendo tal substância, podem não ter um efeito benéfico para a mucosa bucal, pois seu efeito desidratante pode agravar a halitose.

Uma vez que a halitose fisiológica se deve principalmente à região do dorso posterior da língua, os pacientes devem ser instruídos a higienizar apropriadamente esta região, com o auxílio de antimicrobianos, principalmente na forma de enxaguatórios bucais<sup>47, 72 e 101</sup>.

Os produtos usados em enxaguatórios geralmente apresentam um largo espectro de atividade, não possuindo seletividade de efeito. Apesar disso, a literatura não revela evidência de que o uso dos enxaguatórios gera resistência ou desequilíbrio na flora bucal<sup>7</sup>.

Os componentes químicos mais estudados recentemente são íons de zinco<sup>70, 79, 104 e 114</sup>, gluconato de clorexidina<sup>7, 8, 40, 70, 85, 87, 104 e 114</sup>, triclosan<sup>8, 40, 85 e 111</sup>, cloreto de cetil-piridínio<sup>7, 8, 104 e 114</sup> e óleos essenciais<sup>7, 8, 62 e 68</sup>.

### 2.4.2 Clorexidina

A clorexidina é considerada o mais eficaz anti-séptico bucal, em termos de efeito antiplaca e antigengivite. Apesar disso, sua aplicação na halitose bucal não tem sido devidamente estudada. Usada nas concentrações de 0,12% e 0,2% produz efeitos colaterais de pigmentação, alteração e redução do paladar, o que tem desencorajado seu uso para o combate à halitose<sup>75</sup>.

A clorexidina é uma molécula catiônica e consiste de dois anéis simétricos 4-clorofenil e dois grupos bisguanida ligados por uma cadeia central hexametileno. Apresenta pH entre 5,5 e 7 e sua preparação mais comum é com o sal digluconato, devido sua alta estabilidade e solubilidade em água<sup>3</sup>. Possui efeito antibacteriano de amplo espectro contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, anaeróbicos facultativos, aeróbicos, esporos, vírus e fungos. Sendo um agente catiônico, a clorexidina se liga eletrostaticamente à superfícies bacterianas carregadas negativamente, danificando a camada mais externa da parede bacteriana tornando-a permeável. O resultado da penetração da clorexidina na bactéria é a precipitação do citoplasma, impedindo o reparo da membrana celular levando à destruição da bactéria<sup>3, 11 e 53</sup>.

A clorexidina é um anti-séptico que tem sido amplamente utilizado em afecções de pele e mucosa. Desenvolvida como um preservativo na indústria farmacêutica, demonstrou ser um efetivo agente anti-placa e ao lado do flúor é a substância que tem recebido maior atenção na odontologia<sup>58</sup>; além de ampla aplicação no campo médico. Estudos demonstraram que a eficácia do controle de placa é influenciada por diferentes fatores como concentração da substância, dosagem e duração do bochecho, bem como o modo de aplicação do composto<sup>18</sup>.

É o agente antimicrobiano mais testado para o tratamento da gengivite e mais recentemente também tem sido testado seu efeito no tratamento da halitose<sup>73</sup>.

Estudando o mecanismo de ação da clorexidina Kuyakanond e Quesnel<sup>41</sup> concluíram que a inibição da ATPase não representa o mecanismo de ação letal de clorexidina, como se acreditava anteriormente, mas apóia a teoria da interrupção da permeabilidade da membrana de forma similar à polimixina, porém diferente bioquimicamente em sua forma de interação com os componentes da membrana. A atividade antimicrobiana se deve a sua habilidade de ligação com as membranas, que sofrem alteração de permeabilidade<sup>30</sup>.

A clorexidina é uma molécula positivamente carregada e é atraída para a superfície bacteriana que é carregada negativamente. Esta ligação é especificamente forte para os compostos contendo fosfato, o que provoca um dano na integridade da membrana, facilitando a penetração da clorexidina para a porção interna da célula bacteriana. Lá, a clorexidina se liga aos fosfolipídios provocando aumento de permeabilidade da camada interna da membrana e escape de moléculas de baixo peso molecular, como os íons potássio<sup>53</sup>.

A ação da clorexidina é influenciada pelo pH. Sob condições ácidas a ionização da superfície da bactéria é suprimida, reduzindo o efeito bactericida da clorexidina<sup>3</sup>. No estudo feito por Waaler<sup>98</sup>, foi demonstrado uma total perda de efeito anti-placa quando a clorexidina foi usada em pH 3.

A clorexidina age de formas diferentes de acordo com a concentração. Em baixas concentrações é bacteriostática, com danos celulares reversíveis e em concentrações mais elevadas, como a dos anti-sépticos, são mais bactericidas coagulando os constituintes citoplasmáticos<sup>29</sup>.

Em pH fisiológico a clorexidina é uma grande molécula dicatiônica, com as cargas positivas distribuídas sobre os átomos de

nitrogênio de cada lado da ponte hexametileno. A adesividade da clorexidina se dá também nas superfícies negativamente carregadas da cavidade bucal como dentes, mucosa, película adquirida e saliva<sup>53</sup>.

Um simples bochecho com clorexidina irá manter uma substantividade com efeito bactericida por várias horas. No estudo realizado por Freitas et al.<sup>18</sup>, testes de adsorção em superfícies mostraram que a molécula foi adsorvida em superfícies hidrofílicas e hidrofóbicas, concluindo que a principal força de adsorção da clorexidina em superfícies hidrofílicas é a atração eletrostática, ao passo que para as superfícies hidrofóbicas são as interações hidrofóbicas. Estes mecanismos são importantes no que se refere à retenção da substância na cavidade bucal.

Nos estudos de Musteata e Pawliszyn<sup>55</sup> sobre a concentração total e livre da clorexidina após bochechos, verificou-se que a concentração de clorexidina necessária para a inibição de bactérias cariogênicas foi mantida por pelo menos 8h. O estudo também mostrou que a clorexidina permanece estável na cavidade bucal por pelo menos 9h e a boca funciona como um reservatório que libera lentamente a droga. Foi revelado ainda, que após a administração de clorexidina, a composição normal da saliva muda (diminui a quantidade de água) por poucas horas, provavelmente como uma resposta fisiológica ao gosto amargo do remédio.

A clorexidina é também usada em doença periodontal, em procedimentos pré-operatórios para exodontias e implante dentário. Pode ser usada como bochecho, gel ou verniz em uma série grande de concentrações. Mais recentemente tem sido utilizada como pequenos chips introduzidos diretamente no interior de bolsas periodontais. Seus efeitos colaterais em odontologia incluem aumento da formação de cálculo dentário, alteração de paladar, sensibilização e descamação da mucosa<sup>58</sup>.

Escurecimento extrínseco dos dentes é também reconhecido como um efeito colateral e parece ser uma consequência da desnaturação protéica acompanhada pela exposição de grupos sulfidrilas que reagiriam com metais como ferro e enxofre, formando sulfetos pigmentados<sup>13 e 100</sup>.

A clorexidina também pode diretamente precipitar pigmentos orgânicos dos alimentos. Warner et al.<sup>100</sup> avaliaram o escurecimento dos dentes e constataram que as manchas induzidas pela clorexidina apresentam altas proporções de enxofre e ferro. As manchas mais escuras estavam associadas com material orgânico amorfo nas proximidades de áreas altamente mineralizadas. Áreas sem manchas continham pouco enxofre e baixos níveis de metais. Proteínas salivares ou bacterianas poderiam ser a fonte de enxofre associado às manchas. Exemplos destas proteínas são a lactoferrina salivar (contém enxofre e é ligante de ferro) ou a proteína bacteriana periplasmática ligante de enxofre. A alteração do paladar é um dos efeitos colaterais observados e é devido provavelmente à desnaturação das proteínas na superfície dos botões gustativos<sup>53</sup>.

A clorexidina usada nas concentrações habituais de 0,12% e 2% apresentam baixíssimos níveis de toxicidade tecidual local e sistêmica<sup>46</sup>; além disso, reações alérgicas à clorexidina são raras, com poucos casos relatados de reações anafiláticas.

#### 2.4.3 Enxaguatórios fitoterápicos

Existe a crença de que enxaguatórios e dentifrícios contendo ingredientes fitoterápicos tenham atividade anti-placa e propriedades anti-gengivite. No entanto, praticamente inexistem pesquisas publicadas *in vivo* sugerindo esses benefícios, embora pesquisas *in vitro* apoiem esta ideia<sup>43</sup>.

Dentre os poucos estudos encontrados em que foram utilizados produtos fitoterápicos, ressalta-se o de Pannuti et al.<sup>63</sup>, que avaliaram o efeito de um dentifrício herbal na redução de placa e gengivite, verificando uma redução significativa no índice gengival quando comparado com um dentifrício convencional.

Gultz et al.<sup>24</sup>, trabalhando *in vivo*, compararam as propriedades antimicrobianas de um enxaguatório herbal sem álcool, com o Listerine e com clorexidina. Estes três foram comparados com água. Testes microbiológicos foram feitos e os resultados mostraram que todos os enxaguatórios testados se comportaram melhor do que a água, sendo que o enxaguatório herbal inibiu bactérias mais efetivamente do que o Listerine® e estatisticamente igual à clorexidina.

Rösing et al.<sup>79</sup> fizeram um estudo comparativo entre alguns enxaguatórios indicados contra a halitose; dentre eles um à base de ervas, e concluíram que o efeito deste produto na neutralização dos CSV não foi eficaz.

Comparando a eficácia antimicrobiana de vários produtos enxaguatórios, Shapiro et al.<sup>85</sup> testaram três enxaguatórios baseados em extratos vegetais e verificaram um menor efeito de redução de placa, quando comparados ao grupo da clorexidina.

Avaliando a eficácia da irrigação subgengival na gengivite, Pistorius et al.<sup>67</sup> compararam o efeito de um enxaguatório herbal com um convencional a base de cloreto de cetil-piridínio e fluoreto de sódio. A aplicação de um enxaguatório herbal no sulco gengival resultou em significativa redução nos parâmetros de inflamação gengival, que foi mais significativa do que a do enxaguatório convencional.

O estudo realizado por Lauten et al.<sup>43</sup> procurou aproveitar as propriedades antiinflamatórias e antimicrobianas de algumas substâncias vegetais como a melaleuca, a manuka, a calêndula e o chá verde, já observadas *in vitro*, e combiná-las em um enxaguatório bucal. Este estudo

piloto não demonstrou uma redução significativa nos valores médios de índice de placa e índice gengival, quando comparado com o placebo.

#### 2.4.4 *Camellia sinensis*

Para os orientais, chá é a infusão aquosa das folhas secas da planta *Camellia sinensis*, pertencente à família *Theaceae*. O chá da *Camellia sinensis* é a bebida mais popular consumida no mundo, sendo utilizada por dois terços da população mundial, perdendo apenas para a água<sup>105</sup>.

A planta *Camellia sinensis* é nativa do sul da China e foi posteriormente levada para o Japão e Índia. O consumo humano da *Camellia sinensis* data de 4000 a 6000 anos e é considerado seguro para a saúde pela U.S. Food and Drug Administration. Dependendo do processo de secagem e fermentação das folhas, os chás são classificados em três tipos principais: o chá verde que não é fermentado, o oolong que é semi-fermentado e o chá preto que é fermentado<sup>105</sup>.

No Brasil, a *Camellia sinensis* é cultivada na região do vale do Ribeira, principalmente para a produção de chá preto. Recentemente, o Brasil começou a produzir o chá verde devido ao aumento da demanda por este produto<sup>80</sup>. O elevado consumo do chá de *Camellia sinensis*, tanto por japoneses nativos quanto por seus descendentes, mesmo fora de seu país de origem, está inserido na cultura nipônica como um hábito tradicional<sup>15</sup>.

O chá verde é obtido pela ação de vapor sobre as folhas recentemente colhidas, causando assim a inativação de enzimas que iniciariam o processo de fermentação. Como consequência, origina-se um produto seco e estável, que contém a maioria dos compostos polifenólicos, os quais representam um terço do peso seco das folhas<sup>32</sup>.

A composição química do chá verde é complexa e não totalmente compreendida<sup>26</sup>, ressaltando-se a presença dos componentes mais abundantes - os flavonóides ou polifenóis - mais conhecidos como catequinas: epicatequina (EC), epicatequina-3-galato (ECG), epigalocatequina (EGC) e epigalocatequina-3-galato (EGCG)<sup>32</sup>.

As catequinas pertencem a um grupo de polifenóis encontrados nas folhas da *Camellia sinensis*, matéria prima para a produção de chá verde e preto. O chá verde é uma infusão de folhas apenas secas, enquanto que o chá preto provém de folhas processadas. As catequinas são compostos incolores, hidrossolúveis, que contribuem para o amargor e a adstringência do chá verde. As teaflavinas são compostos responsáveis por parte da cor alaranjada e sabor (adstringência) da infusão de chá preto<sup>48</sup>.

De maior interesse são os compostos polifenólicos baseados na estrutura da isoflavona. Os compostos mais simples nesta classe são as catequinas; as moléculas maiores incluem teaflavina e tearubigina, que são produtos da oxidação e polimerização dos isoflavonóides simples. As teaflavinas são encontradas predominantemente no chá preto e combinadas com a cafeína modulam o amargor e a adstringência dos compostos individuais e dão sabor ao chá. Cerca de 5% do peso seco do chá preto e 10% no caso do chá verde é composto por catequinas, que são flavonóides simples e bem caracterizados, consistindo basicamente de quatro compostos: EC, EGC, ECG e EGCG<sup>26 e 64</sup>.

Estudando os efeitos antimicrobianos do chá verde, Yam et al.<sup>110</sup> concluíram que o seu princípio ativo antibacteriano pode ser explicado pela presença de polifenóis, tais como, EGC, EGCG e ECG. Muitos patógenos importantes foram sensíveis ao chá verde. A maioria das espécies testadas tiveram uma sensibilidade homogênea, porém houve alguma variação entre diferentes cepas de *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. O padrão de atividade não foi o mesmo dos anti-

sépticos, mas apresentou diferenças entre espécies Gram-negativas, Gram-positivas e cocos. Isto sugere um modo de ação diferente das desnaturações protéicas. Dentre vários microrganismos testados *Staphilococcus* e *Yersinia* foram respectivamente os gêneros Gram-positivos e Gram-negativos mais sensíveis.

Wei e Wu<sup>102</sup> estudaram os efeitos do extrato aquoso do chá preto e concluíram que os polifenóis podem contribuir para a saúde periodontal, pela supressão do crescimento e das propriedades de virulência dos patógenos periodontais. O extrato diluído seriado ou os polifenóis foram inoculados em bactérias teste: *Actinobacillus actinomycetencomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Porphyromonas gingivalis*. Os resultados mostraram que o extrato inibiu o crescimento de todas as bactérias testadas, exceto de *Actinobacillus actinomycetencomitans*.

Pesquisando a atividade anticariogênica do chá verde, Sakanaka et al.<sup>81</sup> verificaram que o extrato metanólico do chá inibiu o crescimento de bactérias cariogênicas *Streptococcus mutans*. Os componentes polifenólicos ativos isolados foram: C, EC, galocatequina (GC), EGC, ECG e EGCG. Os autores concluíram que beber chá verde é, até certo ponto, uma maneira de se prevenir a cárie dental.

Dentre os polifenóis existentes no chá verde, a catequina EGCG, presente em maior quantidade no botão das folhas e nas primeiras folhas da planta<sup>64</sup>, vem sendo apontada como a principal responsável pelos efeitos fisiológicos benéficos à saúde humana. Sua presença é a mais abundante entre todos os componentes fenólicos existentes na planta<sup>15 e 26</sup>.

Em trabalho de revisão de literatura, Pastore e Fratellone<sup>64</sup> concluíram que aparentemente não existem efeitos colaterais significativos, ou toxicidade associados com o consumo regular do chá verde. Seus efeitos benéficos vão desde ação antiinflamatória e antioxidante, além de ação eficaz em doenças cardiovasculares, doenças

da boca, Mal de Parkinson, diabetes, inflamações intestinais e desordens da pele.

#### 2.4.5 *Curcuma zedoaria*

A *Curcuma zedoaria* é um arbusto perene do gênero Indo-Himalaio *Curcuma*, que cresce principalmente em países do leste asiático incluindo China, Vietnam, Índia, Indonésia, Paquistão e tem sido usado como medicamento tradicional na Ásia para doenças do estômago, tratamento de doenças do sangue, como hepatoprotetor e estimulante da menstruação<sup>4, 28 e 33</sup>. A *Curcuma zedoaria* pertence à família *Zingiberaceae* e tem sido usada há muito tempo como remédio popular e como chá. Para tanto, utilizam seu rizoma seco. Esta espécie é amplamente cultivada no sul da Índia e usada principalmente pelo seu “amido”, que tem propriedades medicinais. A *Curcuma zedoaria* tem tubérculos de cor laranja escuro que são usados tradicionalmente como carminativos, estimulantes digestivos, e no tratamento de resfriados e infecções. O óleo essencial da *Curcuma zedoaria*, obtido pela destilação a vapor de tubérculos secos, possui um ingrediente ativo em preparados antibacterianos. O “amido” extraído é usado em dietas para crianças e convalescentes devido a sua propriedade calmante e demulcente<sup>103</sup>.

O rizoma da *Curcuma zedoaria* é empregado na China e em muitos outros países, inclusive no Brasil, para o tratamento de vários males<sup>82</sup>. Muitos estudos têm confirmado e também ampliado a maioria das indicações popularmente conhecidas desta planta<sup>42 e 57</sup>.

As atividades antibacterianas, antifúngicas e analgésicas dos extratos da *Curcuma zedoaria* e do seu óleo essencial têm sido divulgadas e atribuídas à presença de mono e sesquiterpenos<sup>42 e 57</sup>.

Num trabalho de análise do óleo essencial da *Curcuma zedoaria* realizado por Lai et al.<sup>42</sup>, 13 compostos foram identificados. Os

principais componentes são: epicurzerenone (46%), curdione (13,66%) e 5-isopropilidene-3,8-dimetil-1(5H)-azulenone (9,15%). Alguns outros em menor quantidade incluem 1,8-cineole (1,36%), cânfora (1,46%), B-lemene (1,90%), alfa-terpineol (1,45%), alfa-curcumene (0,70%), curcumol (1,89%) e isocucumenol (1,84%). Menos de 3% de terpenos foi identificado no óleo essencial. As principais cetonas representam aproximadamente 71% do óleo essencial. Foi identificada atividade antimicrobiana em testes com 6 diferentes bactérias Gram-positivas e Gram-negativas: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahemolyticus*, *Salmonella typhimurium* e *Bacillus cereus*, sendo o *Vibrio parahemolyticus* o patógeno mais sensível e a *Escherichia coli* o menos sensível. Também se constatou citotoxicidade em células da linhagem HL-60 de leucemia promielocítica humana, bem como a inibição da diferenciação monocítica das células HL-60 da leucemia promielocítica humana. O autor conclui que embora os terpenos no óleo essencial possam ter um papel importante como antimicrobianos, antioxidantes e atividade citotóxica, outros componentes, especialmente epicurzerenone, curdione e 5-isopropilidene-3,8-dimetil-1(5H)-azulenone podem também estar envolvidos na ação.

Estudos também demonstraram uma expressiva atividade contra uma ampla gama de fungos patogênicos para humanos, incluindo cepas resistentes aos conhecidos antifúngicos anfotericina B e cetoconazol, quando analisado o extrato alcoólico quente do rizoma seco da planta. O componente mais abundante foi o Ethyl p-Methoxycinnamate (EPMC), que apresentou um largo espectro antifúngico, porém sem ação sobre as bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas testadas<sup>17 e 25</sup>.

O trabalho de Navarro et al.<sup>57</sup>, realizado em ratos, verificou que a *Curcuma zedoaria* cultivada no Brasil exerce efeitos analgésicos, atribuídos à presença dos terpenóides. Um deles, o sesquiterpeno curcumenol, demonstrou produzir potente ação analgésica dose dependente, através de um mecanismo de ação diferente dos opiáceos.

Um efeito antiinflamatório também foi observado. Para os autores, o mecanismo pelo qual os princípios ativos da planta exercem atividade analgésica permanece, ainda, indeterminado. Os resultados confirmam e justificam o uso popular desta planta para o tratamento dos processos dolorosos.

Estudando novos agentes antiinflamatórios ou preventivos de câncer derivados de produtos naturais, Hong et al.<sup>28</sup> constataram que o extrato alcoólico do rizoma da *Curcuma zedoaria* mostrou-se eficaz na inibição da produção de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) induzida por lipopolissacarídeo (LPS). Por fracionamento guiado os compostos beta-turmerone e ar-turmerone foram isolados e identificados como os princípios ativos responsáveis por esta capacidade. Concluíram que os sesquiterpenóides da *Curcuma zedoaria* inibiram a produção de PGE<sub>2</sub> e a formação de óxido nítrico.

Ação anti-fibrosante no fígado foi constatada pelos estudos de Jiang et al.<sup>31</sup>, utilizando os óleos curcuma aromático, curcumenol e curcumol.

Um estudo com extratos de *Curcuma zedoaria* e *Curcuma malabarica* foi realizado por Wilson et al.<sup>103</sup>, para se avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica das plantas. Os extratos foram feitos após a secagem e pulverização das raízes e com a utilização de seis solventes diferentes: éter de petróleo, n-hexano, clorofórmio, acetona, etanol e água. Os microrganismos analisados foram os Gram-positivos *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Micrococcus luteus*, os Gram-negativos *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae*. Os fungos usados foram *Candida albicans* e *Aspergillus niger*. Os resultados mostraram que todos os solventes, exceto a água, apresentaram significativa ação inibitória. Ação inibitória também foi observada contra todas as bactérias, com exceção de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os extratos com éter, hexano, clorofórmio e acetona apresentaram atividade maior do que os alcoólicos, que somente

apresentaram atividade em altas concentrações. Os extratos acima também apresentaram atividade antifúngica. De modo semelhante à *Curcuma zedoaria*, a *Curcuma malabarica* apresentou efeito antimicrobiano com todos os solventes, exceto com água, porém a *Curcuma zedoaria* teve atividade antimicrobiana mais acentuada.

### **3 PROPOSIÇÃO**

O objetivo deste trabalho foi testar os efeitos terapêuticos sobre o hálito de duas plantas medicinais, *Curcuma zedoaria* e *Camellia sinensis*, usadas sob a forma de enxagatários, avaliando sua eficácia na inibição da produção de CSV imediatamente após o uso da erva e, também, com o passar das horas.

## **4 MATERIAL E MÉTODO**

### **4.1 Grupo experimental**

Os testes foram realizados com 30 voluntários adultos, de ambos os sexos, com idade variando de 19 a 43 anos, em sua maioria alunos e funcionários da Faculdade de Odontologia da UNESP de São José dos Campos, que receberam previamente o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido incluído em anexo, informando a natureza da pesquisa, as características, os objetivos, dando total liberdade para uma eventual desistência durante os trabalhos, bem como acesso a qualquer informação sobre a pesquisa, em qualquer etapa da mesma. O participante também foi informado de que não haveria gasto financeiro de sua parte e que o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (protocolo nº 075/2005-PA/CEP) incluído em anexo.

Os critérios de inclusão abrangeram candidatos, que gozavam de bom estado geral de saúde, boa saúde periodontal, que possuíam pelo menos vinte dentes naturais, não fumantes, que não estavam fazendo uso de aparelho ortodôntico, não estavam sob tratamento médico, usando medicação ou enxaguatórios bucais. Nenhum dos participantes reclamou de mau hálito ou tinha razão para acreditar que possuísse mau hálito. Todos os voluntários passaram por avaliação clínica, com o preenchimento de uma ficha de anamnese, cujo modelo está incluído em anexo.

No experimento foram testadas duas plantas medicinais sob a forma de enxaguatórios. Estes enxaguatórios fitoterápicos foram comparados com um enxaguatório placebo (água) e também com um

enxaguatório à base de gluconato de clorexidina a 0,12%. Todos os enxaguatórios foram isentos de álcool em sua composição.

Foi suspenso o uso de qualquer outro produto enxaguatório durante todo o período do teste, que durou cerca de 1 mês para cada paciente. Os voluntários usaram cada enxaguatório apenas uma vez na semana; assim, o indivíduo que iniciava os testes, por exemplo, na 2<sup>a</sup>-feira, só retornava na 2<sup>a</sup>-feira seguinte para testar um novo produto e desta forma, sucessivamente, até a última semana, quando foi testado o último enxaguatório.

Os testes foram feitos entre os meses de abril e novembro de 2006 e todos os participantes usaram os diferentes enxaguatórios com um intervalo de pelo menos uma semana entre eles.

#### 4.2 Substâncias testadas

A *Curcuma zedoaria* utilizada nos testes foi adquirida na farmácia de manipulação Botica Belluz, localizada no município de São José dos Campos. Foi fornecida em embalagem plástica flexível, lacrada e comercializada na forma de pó pelo laboratório Fitoterápico Panizza (Figuras 1 e 2).



a)



b)

FIGURA 1 – *Curcuma zedoaria*: a) planta ao natural; b) embalagem comercial.

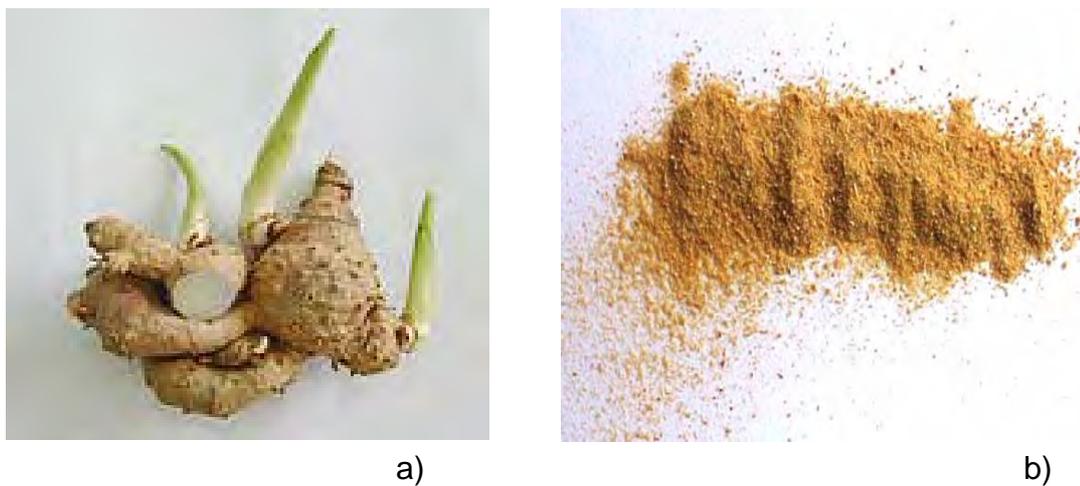


FIGURA 2 – *Curcuma zedoaria*: a) rizoma; b) rizoma em pó.

A *Camellia sinensis* utilizada nos testes foi adquirida em farmácias comuns localizadas no município de São José dos Campos. É fornecida em caixas contendo sachês de 1,5 g da erva e é comercializada pelo laboratório Herbarium (Figuras 3 e 4).



FIGURA 3 – *Camellia sinensis*: a) sachê; b) planta ao natural.

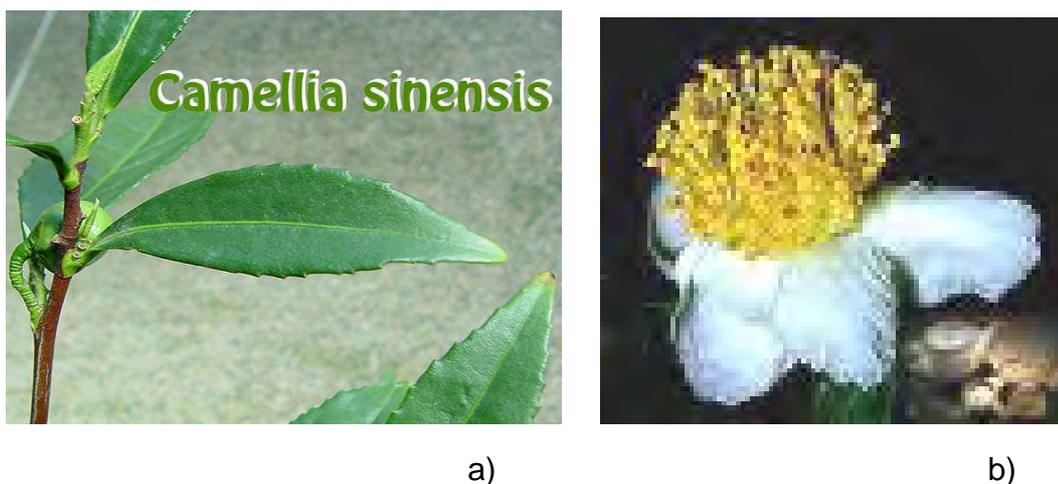


FIGURA 4 – *Camellia sinensis*: a) folhas; b) flor.

A preparação das soluções para os bochechos foi feita seguindo as instruções da embalagem de cada um dos produtos.

Para a *Curcuma zedoaria* foi realizada decocção em água fervente por 5 min de 2,20 g do pó da raiz da planta, o que equivale à quantidade de uma colher de chá do produto, que foi diluído em 200 ml de água filtrada. Passados 5 min o fogo era desligado e aguardava-se 10 min deixando o recipiente da solução abafado, com posterior esfriamento natural.

A *Camellia sinensis* foi preparada por infusão do sachê em 200ml de água filtrada recém fervida, deixando descansar por 3 min.

Os chás preparados eram acondicionados em garrafas plásticas vazias de água mineral e utilizados nos testes como enxaguatórios, cerca de 1 h após a preparação.

Como controle positivo, foi utilizado solução de gluconato de clorexidina a 0,12%, sem a adição de adoçante, flavorizante, corante ou álcool, sendo fabricada na farmácia de manipulação Botica Belluz, localizada no município de São José dos Campos.

Como controle negativo utilizou-se água mineral natural sem gás da marca Passa Quatro, facilmente encontrada no comércio local.

A medição do volume das soluções para os bochechos era feita com seringas descartáveis de 10 ml e as doses para os bochechos eram colocadas em copos plásticos para cafezinho, também descartáveis. Os participantes não tinham conhecimento prévio das substâncias que estavam sendo utilizadas.

### 4.3 Geração de CSV

Para testar a eficácia dos diferentes enxaguatórios são necessários pacientes que tenham evidente alteração do hálito, o que na prática nem sempre se obtém com facilidade. Assim, para haver padronização do grau de comprometimento do hálito nos pacientes participantes, utilizou-se o método “Cysteine Challenge Model” de Kleinberg e Codipilly<sup>34</sup>, que se baseia em bochechos com o aminoácido L-cisteína, a fim de gerar a formação de sulfidreto, que é o principal componente gasoso da halitose<sup>94</sup>.

O princípio do método é fornecer substrato formador de CSV (cisteína), que pela ação da microflora presente na cavidade bucal cataboliza a molécula de cisteína por ação enzimática, gerando a formação, principalmente de sulfidreto; o que leva a uma alteração do hálito<sup>113</sup>.

O método de Kleinberg e Codipilly<sup>34</sup> original utiliza L-cisteína do laboratório Sigma Chemicals em solução aquosa de 6mM e pH 7,2. Para este estudo o método “Cysteine Challenge Model” foi adaptado. Utilizou-se como fonte de cisteína o medicamento Fluimucil, do ZAMBON Laboratórios Farmacêuticos Ltda. (Figura 5), que é amplamente empregado em doenças pulmonares específicas – como expectorante com ação fluidificante de muco, além de ser também indicado para sinusites, bronquites, catarros tubários, enfisema, podendo agir ainda como antioxidante e antiinflamatório.



FIGURA 5 - Fluimucil

Foram escolhidas para o experimento, ampolas de 3mls de Fluimucil® 10% que contém 300 mg de N-acetilcisteína, que é o derivado de N-acetil do aminoácido natural L-cisteína. O conteúdo das ampolas foi diluído em água mineral natural sem gás da marca Passa Quatro, na proporção de 1 parte de Fluimucil® para 11 partes de água, o que resultou em uma solução aquosa na concentração de 57mM e pH 6,1.

O método da cisteína utilizado neste trabalho foi o “Cysteine Challenge Model” modificado.

#### 4.4 Monitor de enxofre

Para a quantificação dos CSV presentes na cavidade bucal dos indivíduos, nas várias etapas dos testes, foi utilizado um aparelho eletrônico portátil, que é capaz de medir a concentração de gases de enxofre presentes no meio, através de um sensor voltamétrico eletroquímico, que gera um sinal quando exposto à gases de enxofre. Este aparelho é fabricado pela empresa norte-americana Interscan Corporation e comercializado com o nome de Halimeter®, modelo RH -

17K (Figura 6). Foi originalmente idealizado como equipamento de uso industrial, sendo, posteriormente adaptado para uso odontológico, quando passou a ser muito utilizado em pesquisa de halitose, por ser relativamente barato, fácil de usar e apresentar boa sensibilidade para os CSV, principalmente sulfidreto. Possui um display numérico que acusa a presença de CSV em partes por bilhão (ppb). A captação do ar do interior da boca é feita por aspiração, através de uma bomba de sucção presente no aparelho. A conexão do aparelho com a boca é feita por meio de uma mangueira flexível, cuja extremidade possui um encaixe para a colocação de um canudo descartável, que é posicionado no interior da boca do paciente.

O sensor do aparelho pode captar outros odores, porém é muito sensível e pode sofrer danos quando exposto a vapores alcoólicos, ou clorados. O tempo médio de vida útil do sensor do aparelho é de 2 anos.



FIGURA 6 – Halímetro.

#### 4.5 Dinâmica dos testes

Os testes foram feitos ao longo do dia e organizados em período da manhã e período da tarde, de acordo com a disponibilidade de cada participante. Por período eram agendados 3 pacientes.

Todos os pacientes receberam orientação verbal e por escrito a respeito dos cuidados com certos tipos de alimentos a serem ingeridos antes dos testes, devendo evitar 24 h antes da consulta alimentos picantes, ou muito condimentados como cebola, alho, entre outros. Evitar, 4 h antes dos testes, o uso de chicletes, balas, café e, por fim, cosméticos perfumados e loções após barba, no dia da consulta.

Para os testes do período da manhã, o paciente era agendado para iniciar por volta das 9h, aproximadamente uma hora após ter se alimentado. Era orientado a fazer normalmente os procedimentos de higienização, imediatamente após o café da manhã, devendo evitar qualquer bebida ou comida a partir daquele momento. Era liberado para ingestão de alimentos e bebidas após o fim dos testes, ou seja, após cerca de 4h. O mesmo procedimento foi adotado com os participantes do período da tarde, que iniciavam os testes por volta das 14h.

As medições com o halímetro foram feitas baseando-se no protocolo preconizado pelo fabricante do aparelho. Após cerca de 1 min de boca fechada o paciente recebia orientação para segurar o canudo do halímetro com os dedos polegar e indicador, introduzindo a extremidade do canudo 5 cm no interior da cavidade bucal, que permanecia entreaberta, com os dentes incisivos superiores e inferiores apoiados sobre os dedos, tomando o cuidado para não tocar a ponta do canudo na língua, dentes, ou superfície interna da boca. Era orientado a prender a respiração por cerca de 15 s, enquanto a medição era feita (Figura 7). Duas medições consecutivas eram feitas e a média aritmética dos picos de medição era anotada na ficha.



FIGURA 7 – Medição dos CSV

As atividades diárias de cada participante foram divididas em 3 tempos:

- a) primeiro tempo - O primeiro procedimento realizado era a medição do hálito natural de cada paciente, a fim de se verificar a qualidade do mesmo. Em seguida era feito um bochecho com 10 ml de solução de acetilcisteína por 30 s. Terminado o tempo, o paciente cuspiu a solução e era orientado a manter a boca fechada por 60 s. Na seqüência, era feita a medição do hálito com o halímetro. Após esta etapa era feito o bochecho com 10ml da solução do enxaguatório teste, por 30 s. Terminado o tempo, o paciente cuspiu a solução e era orientado a manter a boca fechada por 60 s. Nova medição do hálito era feita, seguindo o protocolo já citado. Ao final do primeiro tempo de testes, que durava cerca de 12 min, o paciente era liberado e orientado a retornar após 1 h 30 min;
- b) segundo tempo – Era repetido o bochecho com 10ml da solução de acetilcisteína por 30 s. Terminado o tempo o

paciente cuspiu a solução e era orientado a manter a boca fechada por 60 s, com nova medição do hálito. Ao final do segundo tempo de testes, que durava cerca de 5 min, o paciente era liberado e orientado a retornar após 1h 30 min;

- c) terceiro tempo – Como nas vezes anteriores, era repetido o bochecho com 10ml da solução de acetilcisteína por 30 s e realizada nova medição do hálito com o halímetro. Portanto o último bochecho com acetilcisteína era feito após 3 h do início dos testes. Terminado o terceiro tempo, que durava cerca de 5 min, o paciente era dispensado e agendado para a semana seguinte, quando um novo enxaguatório seria testado.

## 5 RESULTADOS

A análise estatística dos resultados obtidos apresenta dados referentes à concentração de CSV medidos pelo halímetro, após bochechos com os diferentes enxaguatórios, em três intervalos de tempo constantes e consecutivos: após 1 min, após 90 min e após 180 min.

Os gráficos, e os testes ANOVA de Friedman e de comparação múltipla de Dunn, foram efetuados usando o programa computacional GraphPad Prism (version 4.02 for Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)).

Os valores em porcentagem representam o valor que foi obtido pelo halímetro no instante inicial (1 min após o bochecho com acetilcisteína), subtraído do valor final (após o bochecho com o enxaguatório teste), dividido pelo valor inicial. Estes cálculos foram feitos para os três intervalos de tempo já citados e para cada paciente individualmente.

A primeira medição corresponde à concentração dos CSV, 1 min após o bochecho com o enxaguatório teste, conforme as tabelas e figuras correspondentes.

Tabela 1 - Avaliação após 1 min. Estatística descritiva dos dados de Compostos Sulfurados Voláteis em (%), obtidos nos testes de halitose em 30 pacientes, segundo quatro diferentes tipos de enxaguatórios.

Estatística	Água	Zedoaria	Camélia	Clorexidina
N	30	30	30	30
Média	42,53	51,36	49,98	58,91
Desvio padrão	17,46	17,96	16,61	20,09
Mínimo	0,00	-30,37	-4,62	0,00
Q1 (25º percentil)	23,46	45,40	43,66	46,75
mediana	47,99	54,44	51,58	61,86
Q3 (75º percentil)	55,69	60,48	62,90	74,58
Máximo	71,20	73,30	74,43	87,95

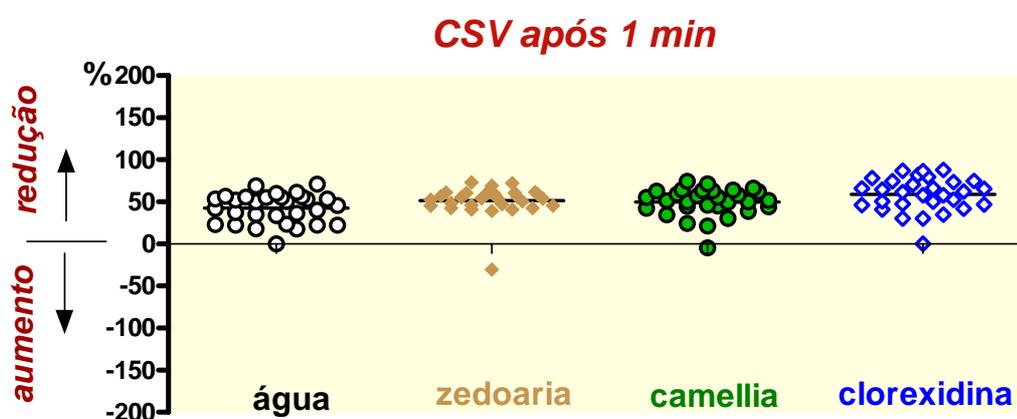


FIGURA 8 Avaliação após 1 min. Gráfico de pontos (*dot plot*) dos valores de Compostos Sulfurados Voláteis em (%). Valor da diferença, entre o instante inicial menos o final, em relação ao valor inicial obtidos em 30 pacientes segundo quatro diferentes tipos de enxaguatórios.

Observa-se, por meio da Figura 8, que 1 min após o bochecho com os enxaguatórios teste, houve redução da concentração

de CSV de maneira semelhante entre eles. Na Tabela 2 pode-se observar que o comportamento da água e da *Camellia sinensis* foi semelhante entre si, diferindo ligeiramente da *Curcuma zedoaria* e, em maior grau, da clorexidina.

Tabela 2- Tempo após 1 min. Formação de grupos homogêneos por meio do teste de Dunn (5%), após o teste ANOVA de Friedman\*.

Enxaguatórios	Mediana	Grupos Homogêneos**	
Água	47,99	A	
Zedoaria	54,44		B
Camellia	51,58	A	B
Clorexidina	61,86		B

\*  $F_{(gl=3)} = 23,16$ ;  $p = 0,0001 < 0,05$ ;

\*\* medianas seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente

A segunda medição corresponde à concentração dos CSV, 90 min após o bochecho com o enxaguatório teste, conforme as tabelas e gráfico correspondentes.

Tabela 3- Avaliação após 90 min. Estatística descritiva dos dados de Compostos Sulfurados Voláteis (%) obtidos nos testes de halitose, em 30 pacientes segundo quatro diferentes tipos de enxaguatórios.

Estatística	Água	Zedoaria	Camélia	Clorexidina
N	30	30	30	30
Média	-8,94	-19,66	-15,45	63,53
Desvio padrão	24,27	25,34	26,61	25,48
Mínimo	-65,20	-78,95	-76,60	0,00
Q1 (25º percentil)	-24,78	-39,83	-31,70	43,18
Mediana	0,00	-12,99	-17,39	73,05
Q3 (75º percentil)	7,25	-1,28	0,00	81,10
Máximo	27,49	12,20	33,23	94,36

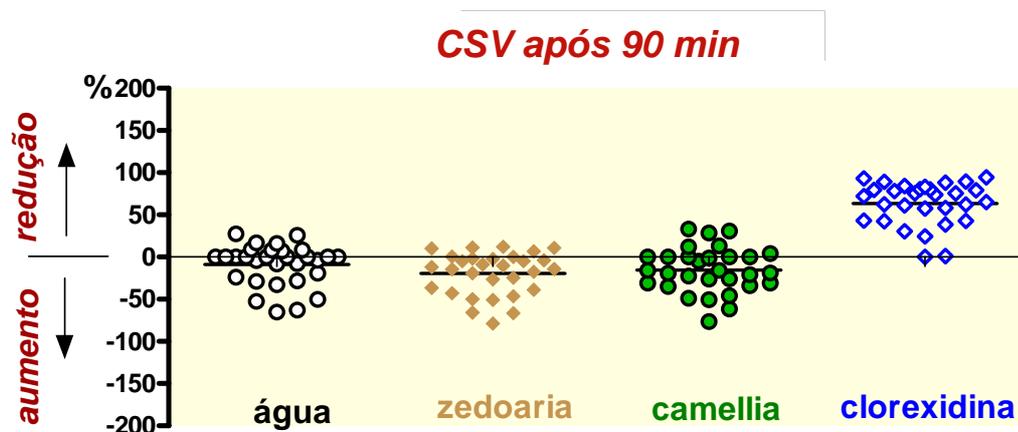


FIGURA 9- Avaliação após 90 min. Gráfico de pontos (*dot plot*) dos valores de Compostos Sulfurados Voláteis em (%). Valor da diferença, entre o instante inicial menos o final, em relação ao valor inicial obtidos em 30 pacientes segundo quatro diferentes tipos de enxaguatórios.

Observa-se que 90 min após o bochecho com os enxaguatórios teste, houve redução da concentração de CSV apenas para o grupo da clorexidina, o que significa que somente a clorexidina foi capaz de neutralizar a produção dos CSV após 90 min do bochecho. Nos demais grupos houve aumento da concentração de CSV, com valores similares, demonstrando que o comportamento da água, da *Camellia sinensis* e da *Curcuma zedoaria* foi semelhante entre si, porém diferente da clorexidina (Tabela 4 e Figura 9).

Tabela 4- Tempo após 90 min. Formação de grupos homogêneos por meio do teste de Dunn (5%), após o teste ANOVA de Friedman\*.

Enxaguatórios	Mediana	Grupos Homogêneos**
Água	0,00	A
Zedoaria	-12,99	A
Camélia	-17,39	A
Clorexidina	73,05	B

\*  $F_{(gl=3)} = 49.30$ ;  $p = 0,0001 < 0,05$ ;

\*\* medianas seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente

A terceira medição corresponde à concentração dos CSV 180 min após o bochecho com o enxaguatório teste, conforme as tabelas e gráfico correspondentes (Tabelas 5 e 6, Figura 10).

Tabela 5- Avaliação após 180 min. Estatística descritiva dos dados de Compostos Sulfurados Voláteis em (%) obtidos nos testes de halitose, em 30 pacientes segundo quatro diferentes tipos de enxaguatórios.

Estatística	Água	Zedoaria	Camélia	Clorexidina
N	30	30	30	30
Média	-22,08	-30,17	-31,09	68,80
Desvio padrão	33,68	43,38	33,68	23,80
Mínimo	-96,91	-127,29	-145,24	0,00
Q1 (25º percentil)	-52,71	-64,23	-49,75	53,47
Mediana	-7,49	-17,74	-22,16	76,65
Q3 (75º percentil)	0,00	0,00	-0,75	86,89
Máximo	52,00	88,24	2,80	96,86

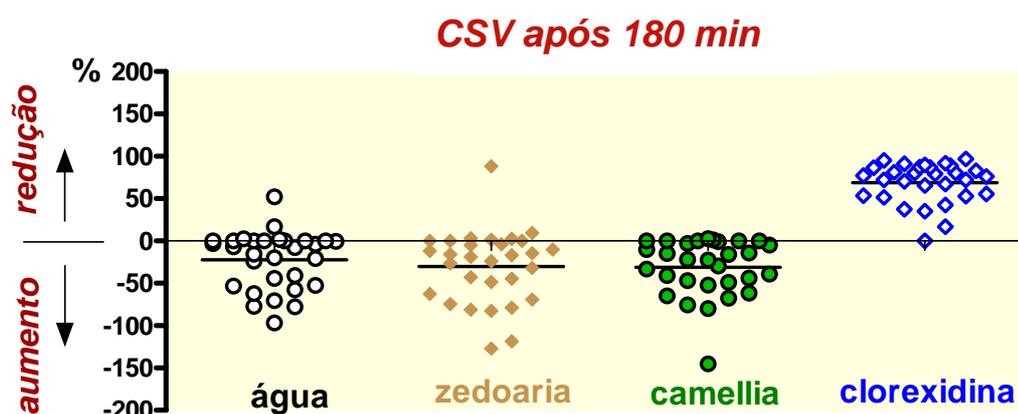


FIGURA 10- Avaliação após 180 min. Gráfico de pontos (*dot plot*) dos valores de Compostos Sulfurados Voláteis em (%). Valor da diferença, entre o instante inicial menos o final em relação ao valor inicial obtidos em 30 pacientes segundo quatro diferentes tipos de enxaguatórios.

Observa-se que 180 min após o bochecho com os enxaguatórios teste, houve redução da concentração de CSV apenas para o grupo da clorexidina, o que significa que somente a clorexidina foi capaz de neutralizar a produção dos CSV após 180 min do bochecho. Nos demais grupos houve aumento da concentração de CSV com valores semelhantes, mostrando que o comportamento da água, da *Camellia sinensis* e da *Curcuma zedoaria* foi semelhante entre si, porém diferente da clorexidina.

Tabela 6- Tempo após 180 min. Formação de grupos homogêneos por meio do teste de Dunn (5%), após o teste ANOVA de Friedman\*.

Enxaguatórios	Mediana	Grupos Homogêneos**
Água	-7,49	A
Zedoaria	-17,74	A
Camélia	-22,16	A
Clorexidina	76,65	B

\*  $F_{(gl=3)} = 49.87$ ;  $p = 0,0001 < 0,05$ ;

\*\* medianas seguidas de letras diferentes diferem estatisticamente

## 6 DISCUSSÃO

Como visto na revisão de literatura, cerca de 90% da halitose é originada na cavidade bucal e é resultado da ação de bactérias proteolíticas Gram-negativas. Portanto, todo o procedimento voltado para a redução da quantidade desses microrganismos, através do controle da placa bacteriana na boca, será benéfico para o controle do mau hálito.

O controle da placa bacteriana através de enxaguatórios bucais vem sendo amplamente utilizado como meio alternativo e coadjuvante aos controles mecânicos tradicionais<sup>82</sup>. Estudos demonstram que o uso de anti-sépticos na forma de enxaguatórios bucais proporciona uma substancial, porém temporária redução no número total de microrganismos na cavidade bucal. São usados na boca para o tratamento de infecções menores, como auxiliares de antibioticoterapias, na profilaxia após cirurgias, para higienização geral da boca, redução da formação de placa e para profilaxia e tratamento do mau odor bucal<sup>7</sup>.

O uso popular de enxaguatórios bucais tem aumentado substancialmente, entretanto, são poucos os produtos comerciais à base de plantas medicinais.

Neste estudo, *Curcuma zedoaria* e *Camellia sinensis* foram as plantas escolhidas para a avaliação do efeito de tratamentos fitoterápicos no controle da halitose através da diminuição da produção de CSV. Tais plantas foram selecionadas dentre várias outras, uma vez que existem muitas plantas tradicionalmente empregadas para o combate ao mau hálito. O critério de escolha destas duas plantas foi baseado nas freqüentes citações nos sites de produtos fitoterápicos\*, na atual

---

\*Disponível em : <http://www.webmd.com/content/Article/65/72589.htm?printing=true>.  
Acesso em: 25/11/2006.

popularidade que possuem, nos catálogos dos laboratórios de produtos fitoterápicos e nas citações encontradas na literatura científica a respeito de suas propriedades medicinais, dentre elas as propriedades bactericidas e fungicidas. Revisando a literatura, não foi encontrado trabalho envolvendo testes comparativos com estas plantas, avaliando especificamente suas propriedades no controle da halitose. Desta forma, como estudo pioneiro, procurou-se utilizar as plantas em seu estado natural, sem processamentos químicos, ou uso de tinturas e extratos orgânicos, pois julgamos mais apropriado avaliar o efeito destas plantas ao natural, como são usadas comumente pela população. As plantas foram utilizadas isoladamente, sem associação com outras substâncias químicas ou ervas. O motivo de se usar as plantas isoladamente foi evitar possíveis interações entre as substâncias químicas de plantas diferentes. Apoiando esta idéia, Lauten et al.<sup>43</sup> afirmam que a desvantagem do emprego de uma combinação de substâncias ao mesmo tempo em um enxaguatório é a dificuldade de se avaliar se está ocorrendo sinergismo ou antagonismo entre as substâncias químicas.

Da *Curcuma zedoaria* se utiliza o rizoma, que pode ser usado na forma de lascas ou em pó. Para os testes, optou-se pela forma em pó, pois permite uma melhor padronização durante o processo de pesagem das doses individuais. Como fornecedor, foi escolhido o laboratório fitoterápico Panizza, por ser um laboratório de renome e por oferecer o produto nesta forma. No catálogo e no site do laboratório\* a *Curcuma zedoaria* é indicada, entre outras coisas, para o mau hálito, sem, no entanto detalhar como a planta deve ser usada para este fim.

Para os bochechos foi realizada decocção de 2,20 g do rizoma em pó (uma colher de chá), como preconizado na embalagem do produto, produzindo uma solução turva e amarelada de gosto amargo.

---

\*Disponível em: <http://www.panizza.com.br/Produtos/ProdutosBusca.asp>. Acesso em: 6/4/2007.

Os resultados deste estudo mostraram que não houve ação inibitória significativa sobre a produção dos CSV, assemelhando-se à ação da água, o que contrariou nossas expectativas e a afirmação de Navarro et al.<sup>57</sup> de que muitos estudos têm confirmado e também ampliado a maioria das indicações popularmente conhecidas desta planta.

Sandrini et al.<sup>82</sup> afirmam que soluções aquosas a 7,1% para bochechos, obtidas a partir do extrato hidroalcoólico da *Curcuma zedoaria*, podem ser empregadas como auxiliares no controle mecânico da placa bacteriana dental e gengivite, por apresentarem significativa ação antiinflamatória e antimicrobiana, além de apresentarem baixa toxicidade na forma de soluções para bochechos. Eles avaliaram o índice de manchamento dos dentes, o índice gengival e o índice de placa bacteriana em 42 indivíduos, durante um período de 42 dias.

Diante deste resultado surgem indagações a respeito do que poderia estar ocasionando esta ineficácia na inibição da produção dos CSV.

Seria a cocção em água o método mais apropriado para a extração dos compostos ativos da planta?

Seriam as bactérias produtoras dos CSV resistentes aos princípios ativos da planta ?

Poderiam os padrões de qualidade, como grau de pureza, condições de manipulação, tempo e temperatura de estocagem prejudicar o desempenho da planta e influenciar os resultados?

Os estudos de Lai et al.<sup>42</sup> e de Wilson<sup>103</sup> comprovaram significativa ação inibitória contra alguns microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos e fungos, pelo uso do óleo essencial e de extratos de *Curcuma zedoaria* obtidos com diferentes solventes orgânicos, não obtendo efeito quando se usou água como solvente. Os microrganismos sensíveis foram: *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio parahemolyticus*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus*

*aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae*. Os fungos sensíveis foram *Candida albicans* e *Aspergillus niger*.

Batistic et al.<sup>4</sup> e Saito et al.<sup>80</sup> afirmam que condições climáticas, condições do solo, diferentes cultivos, variedades botânicas, tempo de secagem e outros fatores podem modificar os constituintes das drogas vegetais, alterando suas propriedades.

Pereira et al.<sup>65</sup> analisaram amostras de *Curcuma zedoaria* de diferentes farmácias de manipulação de Ponta Grossa no estado do Paraná, e os resultados cromatográficos permitiram observar que, apesar da maioria das amostras apresentar os mesmos componentes dos padrões, a intensidade dos componentes variou consideravelmente, mesmo em relação às amostras de uma mesma farmácia, o que sugere a necessidade de um aprimoramento das técnicas de manipulação e controle de qualidade das formulações, visando a garantia da qualidade do produto.

Diante dos estudos apresentados, é possível se fazer algumas considerações:

Talvez o extrato aquoso da *Curcuma zedoaria* não seja o ideal para uma ação mais eficaz contra os microrganismos presentes na cavidade oral. Provavelmente os microrganismos sensíveis à *Curcuma zedoaria* não façam parte do rol dos proteolíticos anaeróbicos, principais responsáveis pelo mau hálito.

As propriedades das plantas sofrem variações de acordo com condições climáticas, diferentes cultivos, variedades botânicas e tempo de secagem, podendo não apresentar os efeitos esperados.

Apesar destes supostos obstáculos, a *Curcuma zedoaria* é usada em grande escala e possui ampla margem de segurança para o consumo humano. Ficker<sup>17</sup> afirma que as espécies pertencentes à família *Zingiberaceae* são excelentes candidatos ao desenvolvimento de

fitoterápicos antifúngicos; já Nicoletti et al.<sup>60</sup> afirmam que seu uso em dentifrícios tem sido justificado por auxiliar no tratamento da halitose.

Da planta *Camellia sinensis* é feito o chá, que é uma bebida milenar, consumida em várias partes do mundo e seu extrato é costumeiramente saboreado após as refeições no Japão. Lá, existe uma crença popular de que o chá verde deixa a boca limpa<sup>81</sup>.

Para os testes, optou-se pela forma em pó, acondicionado em sachês, contendo 1,5 g da erva, o que permitiu uma melhor padronização das dosagens. Como fornecedor, foi escolhido o laboratório Herbarium por ser bem conceituado e por comercializar o chá verde nesta forma de apresentação.

De acordo com as instruções da embalagem, o chá verde deve ser preparado por infusão do sachê em água fervente, deixando descansar por 3 minutos. O preparado resulta em uma solução amarelada de sabor pouco pronunciado.

Os resultados mostraram que não houve ação inibitória significativa sobre a produção dos CSV, obtendo desempenho semelhante ao da água.

Poderia se pensar que o resultado negativo dos testes seja devido :

- a) ao efeito menos pronunciado do extrato obtido por infusão em água, quando comparado ao efeito do extrato alcoólico da planta;
- b) diferenças de propriedades do chá verde produzido no Brasil, em comparação aos chás produzidos em outros países;
- c) à resistência dos microrganismos envolvidos na halitose, aos polifenóis do chá;
- d) à pouca quantidade de substâncias quimicamente ativas capazes de produzir efeito inibidor sobre a produção dos

CSV, quando em concentração equivalente à uma xícara de chá;

e) à falta de rigor técnico por parte da indústria no processo de produção e comercialização do produto.

Analisando as propriedades químicas das folhas de *Camellia sinensis* de várias marcas de chás comercializadas no Brasil, Matsubara e Rodrigues-Amaya<sup>48</sup> utilizaram sachês com massa de 5 g, que foram colocados em 500 ml de água destilada fervente e deixadas por 5 min, com ligeiras agitações no início, meio e final do período. A determinação das catequinas e teaflavinas foi realizada por um cromatógrafo e os autores observaram que apesar da infusão em água extrair eficientemente as catequinas das folhas, houve grande variação nos teores de catequinas entre amostras, marcas ou tipos de chás, refletindo a variação natural existente entre as amostras utilizadas.

Por outro lado, Lauten et al.<sup>43</sup> testando um enxaguatório herbal, que incluiu a *Camellia sinensis* na composição, afirmam que não estão certos se uma preparação aquosa é a melhor forma de liberar os agentes ativos das plantas.

Comparando a composição química dos chás de *Camellia sinensis* produzidos por uma indústria brasileira, com amostras de chás produzidos no Japão e na China Saito et al.<sup>80</sup> concluíram que as quantidades de EGCG encontradas no chá verde brasileiro foram superiores às quantidades encontradas no chá preto, produzidos na mesma região do Brasil e também superiores aos chás verdes importados. Isto poderia ser atribuído à diferenças de clima e de solo no Brasil, bem como à variedade cultivada.

Com relação à atividade microbiológica apresentada pelos extratos de chá de *Camellia sinensis*, quando em concentrações iguais a de uma xícara de chá (3 mg de sólidos por ml), Hamilton-Miller<sup>26</sup> afirma que a atividade antimicrobiana se deve provavelmente à catequina

EGCG. A contribuição de outras moléculas é limitada, pois pequenas quantidades estão presentes nestas condições.

Yam et al.<sup>110</sup>, estudando o efeito do extrato fracionado do chá verde, adicionaram 2 g de folhas para 100 ml de água fervente, concentração semelhante à contida em duas xícaras de chá. O extrato obtido foi fracionado, as fases orgânicas foram combinadas e por congelamento seco obteve-se uma porção sólida que foi dissolvida em metanol e clorofórmio. Os autores constataram que muitos patógenos importantes foram sensíveis ao chá verde; entre eles *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* e espécies de estafilococos.

Wei e Wu<sup>102</sup> estudaram o efeito inibidor do extrato aquoso do chá preto sobre patógenos periodontais, obtido pela extração das folhas secas, na concentração de 1,25 g de chá, para 100 ml de água fervente, por 5 minutos. Verificaram que *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermédia*, *Peptostreptococcus micros*, *Porphyromonas gingivalis* foram as espécies mais sensíveis e concluíram que os polifenóis podem contribuir para a saúde periodontal, pela supressão do crescimento e das propriedades de virulência dos patógenos periodontais.

Pesquisando a atividade anticariogênica do chá verde Sakanaka et al.<sup>81</sup> verificaram que o extrato metanólico do chá inibiu o crescimento de bactérias *Streptococcus mutans*. Por este motivo Wu e Wei<sup>105</sup>, em concordância com os citados autores, consideram o chá de *Camellia sinensis* um alimento funcional para a saúde da boca, devido ao controle e prevenção das infecções em humanos, principalmente as cáries.

Nos estudos microbiológicos apresentados, observa-se que das bactérias sensíveis aos polifenóis, apenas algumas são produtoras de CSV e encontradas freqüentemente na doença periodontal. De acordo com Bosy<sup>5</sup>, o sulfidreto é formado tanto por indivíduos com doença periodontal como por indivíduos saudáveis.

Os indivíduos que participaram dos testes neste estudo gozavam de boa saúde periodontal, fato este que se traduz por isenção de bactérias causadoras de doença periodontal em suas floras bucais. Assim a grande produção de CSV observada nestes indivíduos, após os bochechos com acetilcisteína, foi provavelmente o resultado da ação de outros microrganismos proteolíticos, semelhantes à flora periodontal, presentes talvez na língua<sup>12</sup>, que não foram sensíveis ao chá verde.

Quanto ao método de extração dos componentes ativos de ambas as plantas, podemos inferir, diante do exposto, que os extratos obtidos com solventes orgânicos parecem produzir melhores resultados microbiológicos. Os resultados de Matsubara e Rodriguez-Amaya<sup>48</sup> apontam uma eficiente ação da água na extração das catequinas da *Camellia sinensis*, não se referindo, porém, à ação microbiológica das catequinas e sim à quantidade extraída.

Ficou claro que as plantas sofrem variações na composição química, de acordo com uma série de fatores ambientais e que tais variações podem influenciar em sua performance.

Estudos específicos voltados para a flora anaeróbica proteolítica se fazem necessários, procurando identificar quais microrganismos produtores de CSV são sensíveis aos componentes químicos das plantas.

Apesar do uso crescente de enxaguatórios bucais pela população, a quantidade de estudos clínicos avaliando sua eficácia no controle da halitose ainda é relativamente pequena. Esta deficiência, aliada à pouca quantidade de estudos comparativos dos efeitos de diferentes agentes antimicrobianos, bem como a dificuldade em se reunir amostras bem definidas de pacientes com halitose, tem estimulado a aplicação de modelos para avaliar o efeito de diferentes produtos contra a halitose<sup>73, 111 e 114</sup>.

Neste estudo foi escolhido o modelo do desafio da cisteína, por ser simples e relativamente barato, além de ser considerado eficaz

por vários pesquisadores. É um método versátil no estudo dos aspectos da formação mau hálito *in vivo* e nos testes preliminares de potenciais novos produtos contra o mau odor, principalmente antes dos testes clínicos mais dispendiosos<sup>20, 34 e 35</sup>.

Como fonte de cisteína foi escolhido o medicamento Fluimucil®, que apresenta tolerabilidade bastante elevada, com ausência de efeitos tóxicos, na concentração utilizada no experimento, mesmo quando ingerido. A concentração de 57 mM utilizada nos testes, apesar de estar bem acima da concentração original preconizada por Kleinberg e Codipilly<sup>34</sup> que é de 6 mM, se mostrou adequada à sensibilidade do halímetro empregado no experimento e eficaz na geração de CSV, proporcionando grande aumento da concentração de CSV, facilmente observada em todos os indivíduos, após os bochechos com acetilcisteína. A vantagem do uso do Fluimucil® foi a facilidade de aquisição, pois é encontrado em qualquer drogaria, além de ter um baixo custo quando comparado ao custo necessário para a importação da L-cisteína do laboratório Sigma Chemicals nos EUA.

O halímetro usado nos testes mostrou um bom desempenho ao longo dos oito meses de trabalhos práticos, não manifestando nenhum sinal de perda da sensibilidade do sensor. Ao todo foram mais de 1200 medições realizadas, o que dá uma média de 40 para cada indivíduo. Nossos estudos confirmaram as impressões de Rosenberg et al.<sup>77</sup> e Pratten et al.<sup>69</sup> que verificaram que o halímetro é capaz de reproduzir com eficácia medidas tomadas em momentos diferentes, sendo capaz também de acusar a redução dos CSV após o tratamento. O uso deste aparelho torna fácil e prático o processo de medição de CSV.

Para os testes, um enxaguatório a base de gluconato de clorexidina a 0,12% foi escolhido como controle positivo, uma vez que a clorexidina é o agente antimicrobiano mais testado para o tratamento das afecções bucais, incluindo a halitose<sup>73</sup>. Além disso, pelo resultado de anos de eficácia comprovada, a clorexidina tem sido usada como padrão

de comparação com outros agentes químicos<sup>53</sup>, com efetividade constatada em testes de halitose como mostram os trabalhos de Bosy et al.<sup>6</sup>, Carvalho et al.<sup>8</sup>, Sreenivasan e Gittins<sup>87</sup> e Young et al.<sup>114</sup>.

Neste estudo, os resultados obtidos pela leitura do halímetro após os bochechos com gluconato de clorexidina, mostraram que esta substância possui um potente efeito de redução da produção de H<sub>2</sub>S que perdurou até o final do último bochecho com acetilcisteína. Um dos mecanismos de ação da clorexidina responsável por este fenômeno, poderia ser explicado pela sua possível interação com o enxofre presente na molécula de cisteína e também presente no sulfidreto. Apoiando esta idéia, Warner et al.<sup>100</sup> ao avaliar o mecanismo de manchamento de dentes, induzidos pela clorexidina, mostraram que as manchas apresentavam altas proporções de enxofre e ferro. Eles concluíram que a clorexidina aumenta a incorporação de proteínas contendo enxofre no interior da placa, que por conseqüência aumenta o processo natural de escurecimento. Proteínas salivares ou bacterianas poderiam ser a fonte de enxofre associado às manchas. Em concordância com esses achados, Negrelo Newton et al.<sup>58</sup> estudando os efeitos biológicos da clorexidina, concluíram que existe a possibilidade de uma interação entre clorexidina, enxofre e ferro.

O pH bucal tem grande influência na ação da clorexidina. O estudo de Waaler<sup>98</sup> demonstrou uma total perda de efeito anti-placa quando a clorexidina foi usada em pH 3,0. Ele concluiu que os íons H<sup>+</sup> dispersos no meio estariam se ligando a grupos fosfato e provavelmente sulfato das proteínas, tornando indisponíveis os potenciais sítios de ligação para a molécula de clorexidina. Esta ligação das proteínas com H<sup>+</sup> causa a precipitação das macromoléculas, que em pH neutro se ligariam à clorexidina. Concluiu também que a perda de efeito clínico da clorexidina em pH 3,0 pode não necessariamente ser causado pela falta de sítios de ligação carregados, mas mais pela precipitação de proteínas

salivares causada pelos íons hidrogênio, uma reação que torna os potenciais sítios de ligação para a clorexidina indisponíveis.

Outro possível mecanismo de ação responsável pela neutralização da produção de CSV após os bochechos com acetilcisteína se deve à atividade antimicrobiana da clorexidina, que é representada por sua habilidade de ligação com as membranas. A clorexidina é uma molécula positivamente carregada e é atraída para a superfície bacteriana que é carregada negativamente. Esta ligação é especificamente forte para os compostos contendo fosfato, o que provoca um dano na integridade da membrana, facilitando a penetração da clorexidina para a porção interna da membrana bacteriana. Lá a clorexidina se liga aos fosfolípidios provocando aumento de permeabilidade da camada interna da membrana e escape de moléculas de baixo peso molecular, como os íons potássio, causando danos celulares<sup>29 e 53</sup>.

Outro fenômeno observado neste estudo foi a ação prolongada da clorexidina, mantendo seu nível de eficácia por todo o período de testes, ou seja, por cerca de três horas. Esta ação prolongada é devida, em parte, às suas propriedades catiônicas, que proporcionam a adesividade da clorexidina, também em superfícies negativamente carregadas da cavidade bucal: dentes, mucosa, película adquirida e saliva<sup>53</sup>. Além disso, a molécula de clorexidina interage eletrostaticamente e hidrofobicamente com as superfícies bucais. Estes mecanismos são importantes no que se refere à retenção da substância na cavidade bucal<sup>18</sup>.

A clorexidina pode também ser adsorvida pela hidroxiapatita do esmalte dentário, agindo como um reservatório, sendo gradualmente liberada à medida que sua concentração no meio diminui. Em baixas concentrações, na faixa de 0,005-0,01%, observa-se uma única camada estável de clorexidina, que pode mudar as propriedades físico-químicas da superfície dos dentes e prevenir ou reduzir a colonização bacteriana. Em concentrações mais altas, multicamadas de clorexidina são

observadas e o excesso pode ser liberado rapidamente para o meio (substantividade)<sup>3</sup>.

Em um estudo farmacocinético, que abrangeu estabilidade química, ligação à proteínas salivares, concentração livre e concentração total, bem como a cinética de eliminação depois da administração oral, foi demonstrado que a clorexidina permanece estável na cavidade bucal por pelo menos 9 h<sup>55</sup>.

Conforme vários relatos mencionados, a clorexidina é objeto de muitos estudos e seu mecanismo de ação parece ser variado. Seu emprego se faz presente na medicina, na odontologia, na veterinária e na indústria alimentícia.

Sua ação no combate à halitose tem se mostrado superior à maioria das outras substâncias utilizadas como enxaguatórios. No entanto, o maior obstáculo encontrado para seu uso irrestrito na odontologia são seus efeitos colaterais de pigmentação de dentes e língua, além da alteração do paladar. Por este motivo, são preconizados intervalos periódicos de alguns dias durante tratamentos mais prolongados com clorexidina.

Durante os testes, seu efeito de redução da produção de CSV após bochechos com acetilcisteína foi marcante, o que permitiu um claro parâmetro de diferenciação com as outras substâncias testadas.

Os resultados obtidos neste trabalho não encerram o assunto em torno dos efeitos das plantas *Curcuma zedoaria* e *Camellia sinensis* sobre o hálito. Presume-se que além das informações culturais e de tradição, existam motivos científicos justificando a eficácia destas plantas contra a halitose, tamanha a quantidade de citações\* relacionadas com o tratamento do mau hálito. No entanto, pouco se discute sobre o modo de uso destas plantas e o tipo de halitose que elas curam; seja de origem bucal ou extra-bucal.

---

\*Disponível em:<http://somostodosum.ig.com.br/clube/artigos.asp?id=4842>. Acesso em 3/9/2006

Poderíamos considerar a hipótese da ação contra o mau hálito se dar pela ingestão do chá destas plantas. Se isto for verdade, se conclui que tal ação ocorre por algum efeito sistêmico no organismo, por exemplo, no aparelho digestivo. Tal suposição faz sentido, uma vez que ambas as plantas são indicadas para distúrbios digestivos; entretanto, como mencionado na revisão de literatura, apenas cerca de 10% dos casos de halitose são de origem sistêmica e destes, por volta de 50% são provocados por distúrbios digestivos, o que representaria cerca de 5% de todos os casos de halitose. Pela frequência de citações não científicas encontradas, não parece provável que tais referências sejam feitas a estas plantas apenas por estes 5% de resultados positivos contra a halitose.

Por outro lado, não parece provável que exista uma convicção absoluta na ação benéfica destas plantas sobre o hálito, uma vez que são escassos os estudos cientificamente embasados que evidenciem isto. A maioria dos relatos encontram-se em sites informais e são freqüentemente baseados na tradição cultural.

Lauten et al.<sup>43</sup> afirmam que existe uma tendência em crer que óleos essenciais e extratos botânicos tenham o potencial de melhorar a saúde bucal e que enxaguatórios e dentifrícios contendo ingredientes fitoterápicos tenham atividade anti-placa e propriedades anti-gengivite. No entanto, praticamente não existem pesquisas publicadas *in vivo* sugerindo esses benefícios, embora pesquisas *in vitro* apóiem esta idéia. Wu e Wei<sup>105</sup> salientam a dificuldade de comparar os dados *in vitro* com os dados *in vivo* devido à falta de padronização nos procedimentos experimentais, tais como documentação dos tipos de chá, origem e métodos de manufatura do chá, procedimentos de extração, bem como a padronização das análises de propriedades dos chás.

Assim, mais estudos seriam necessários, com padronização das variedades botânicas, dos métodos de cultivo, de colheita, do

processamento, da extração dos componentes ativos das plantas e dos experimentos *in vitro* e *in vivo*.

Como sugestão de prosseguimento para este estudo, julgamos necessário descobrir qual o método mais indicado para a eficaz extração dos componentes ativos destas plantas, com o respectivo solvente envolvido e padronizar a metodologia. Os efeitos *in vitro* e *in vivo* dos princípios ativos das plantas, sobre os microrganismos produtores de CSV, em diferentes concentrações, também devem ser estudados. Além disso, são necessários estudos verificando a ação local destas plantas na cavidade bucal após alguns dias de uso contínuo dos enxagatórios, bem como a verificação da ação sistêmica destas plantas sobre o hálito de pacientes que comprovadamente apresentem halitose de origem extra-bucal.

## 7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos e dentro das condições experimentais deste trabalho, foi possível concluir que extratos aquosos de *Camellia sinensis* e de *Curcuma zedoaria*, usados isoladamente como enxaguatórios bucais, na concentração empregada, não apresentaram efeito inibitório na produção de CSV *in vivo*; tanto imediatamente após o uso do bochecho com as ervas, quanto após três horas.

## 8 REFERÊNCIAS\*

1. Albuquerque JAP, Santos AA, Gonçalves SRJ, Alves AMB, Calado AA, Santos JA. A importância do cirurgião-dentista na prevenção, diagnóstico e tratamento da halitose. *Odontol Clin-Cient.* 2004 set./dez.; 3(3):169-72.
2. Aranha FL. *Bioquímica odontológica.* São Paulo: Sarvier; 1996. p.2-8, 59-63.
3. Basrani B, Lemonie C. Chlorhexidine gluconate. *Aust Endod J,* 2005 Aug.; 31(2):48-52.
4. Batistic MA, Nicoletti MA, Auricchio MT. Análise cromatográfica em camada delgada comparativa de extratos de *Curcuma zedoaria* (Christm.). Roscoe. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2004 jul./dez.; 63(1):139-42.
5. Bosy A. Oral malodor: philosophical and practical aspects. *Can Dent Assoc.* 1997 Mar.; 63(3):196-201.
6. Bosy A, Kulkarni GV, Rosenberg M, McCulloch CAG. Relationship of oral malodor to periodontitis: evidence of independence in discrete subpopulations. *J Periodontol.* 1994; 65:37-46.
7. Cannell JS. The use of antimicrobials in the mouth. *J Int Med Res.* 1981;9:277-82.

---

\*Baseado em:

International Comitê of Medical Journal Editors. Bibliographic Services Division. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: simple references [homepage na Internet]. Bethesda: US National Library; c2003 [disponibilidade em 2006 fev; citado em 20 mar.]. Disponível em: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

8. Carvalho MD, Tabchoury CM, Cury JA, Toledo S, Nogueira-Filho GR. Impact of mouthrinses on morning bad breath in healthy subjects. *J Clin Periodontol.* 2004 Feb.; 31(2):85-90.
9. Codipilly DP, Kaufman HW, Kleinberg I. Use of a novel group of oral malodor measurements to evaluate an anti-oral malodor mouthrinse (TriOral™) in humans. *J Clin Dent.* 2004; 15(4):98-104.
10. Coil JM, Yaegaki K, Matsuo T, Miazaki H. Treatment needs (TN) and practical remedies for halitosis. *Int Dent J.* 2002; 52:187-91.
11. Davies A. The mode of action of chlorhexidine. *J Periodontol Res.* 1973; 12(Suppl.):68-75.
12. De Boever EH, Loesche W. J. Assessing the contribution of anaerobic microflora of the tongue to oral malodor. *J Am Dent Assoc.* 1995 Oct.; 126(10):1384-92.
13. Ellingsen JE, Rolla G, Eriksen HM. Extrinsic dental stain caused by chlorhexidine and other denaturing agents. *J Clin Periodontol.* 1982 July; 9(4):317-22.
14. Falcão DP, Vieira CN. Quais são os métodos de diagnóstico e tratamento da halitose? In: Lotufo RFM, Lascaia Júnior NT. *Periodontia e Implantodontia: desmistificando a ciência.* São Paulo: Artes Médicas; 2003. Cap. 22, p. 3-19.
15. Faria F, Santos RS, Vianna LM. Consumo de *Camellia sinensis* em população de origem oriental e incidência de doenças crônicas. *Rev Nutr.* 2006 mar./abr.; 19(2):275-9.

16. Ferreira A B H. Novo dicionário da língua portuguesa [Cd-ROM]. 2ª. ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira; s.d.
17. Ficker CE, Smith ML, Susiartis, Loeman DJ, Irawati Ç, Arnoson JT. Inhibition of human pathogenic fungi by members of zingiberaceae used by the Kenyah (Indonesian Borneo). *J Ethnopharmacol.* 2003 Apr.; 85(2-3):289-93.
18. Freitas LB, Vassilakos N, Arnebrandt, T. Interactions of chlorhexidine with salivary films adsorbed at solid/liquid and air/liquid interfaces. *J Periodont Res.* 1993 Mar.; 28(2):92-7.
19. Gagari E, Kabani S. Adverse effects of mouthwash use: a review. *Oral Surg Oral med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995; 80(4):432-439.
20. Giani P, Abbate ML, Kanapka J, Codipilly M, Kleinberg I. VSC inhibiting activity of experimental mouthwashes. *J Dent Res.* 1996; 75:195.
21. Goldenberg S, Cardash H, Browning H, Sahly H, Rosenberg M. Isolation of *Enterobacteriaceae* from the mouth and potential association with malodor. *J Dent Res.* 1997 Nov.; 76(11):1770-5.
22. Greenman J, Duffield J, Spencer P, Rosenberg M, Corry D, Saad S, et al. Study on organoleptic intensity scale for measuring oral malodor. *J Dent Res.* 2004; 1(83):81-5.
23. Grein NJ. Aspectos clínicos da halitose. In: Tommasi AF. Diagnóstico em patologia bucal. São Paulo: Pancast; 2002. Cap. 3, p.34-38.

24. Gultz J, Kaim JM, DeLeo IV J, Scherer W. An in vivo comparison of the antimicrobial activities of three mouthrinses. *J Clin Dent.* 1998; 9(2):43-5.
25. Gupta SK, Baanerjee AB, Achari B. Isolation of ethyl p-methoxycinnamate, the major antifungal principle of *Curcuma zedoaria*. *Lloydia.* 1976 July/Aug.; 39(4):218-22.
26. Hamilton-Miller JMT. Antimicrobial properties of tea (*Camellia sinensis* L.). *Antimicrob Agents Chemother.* 1995 Nov.; 39(11):2375-2377.
27. Hine MK. Halitosis. *J Am Dent Assoc.* 1957 July; 55:37-46.
28. Hong CH, Noh MS, Lee WY, Lee SK. Inhibitory effects of natural sesquiterpenoids isolated from the rhizomes of *Curcuma zedoaria* on prostaglandin E2 and nitric oxide production. *Planta Med.* 2002 June; 68(6):545-547.
29. Hugo WB, Longworth AR. Cytological aspects of the mode of action of chlorhexidine diacetate. *J Pharm Pharmacol.* 1965; 17:28-32.
30. Hugo WB, Longworth AR. The effect of chlorhexidine on the electrophoretic mobility, cytoplasmic constituents, dehydrogenase activity and cell walls of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Pharm Pharmac.* 1966; 18:569-78.
31. Jiang Y, Li ZS, Jiang FS, Deng X, Yao CS, Nie G. Effects of different ingredients of zedoary on gene expression of HSC-T6 cells. *World J Gastroenterol.* 2005; 11(43):6780-6.

32. Kaszkin M, Beck KF, Eberhardt W, Pfeilschifter J. Unravelling green tea's mechanisms of action: more than meets the eye. *Mol Pharmacol*. 2004; 65(1):15-7.
33. Kim KI, Shin KS, Jun WJ, Hong BS, Shin DH, Cho HY, et al. Effects of polysaccharides from rhizomes of *Curcuma zedoaria* on macrophage functions. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2001 Nov.; 65(11):2369-77.
34. Kleinberg I, Codipilly M. Modeling of the oral malodor system and methods of analysis. *Quintessence Int*. 1999; 30(5):357-9.
35. Kleinberg I, Codipilly DM. Cysteine challenge testing: a powerful tool for examining oral malodor processes and treatments *in vivo*. *Int Dent J*. 2002; 52:221-8.
36. Kleinberg I, Codipilly M. As bases biológicas para a formação do mau hálito. In: Rosenberg M [Ed]. *Halitose perspectivas em pesquisa*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. Cap. 2, p. 9-25.
37. Kleinberg I, Westbay G. Salivary and metabolic factors involved in oral malodor formation. *J Periodontol*. 1992 Sept.; 63(3):768-75.
38. Kolbe AC, Britto PK. Halitosis: main origins, collateral incidence, effect in the geriatrics: a great vestibule in the odontology of the future. *Rev Int Estomatol*. 2004 Apr./June.; 1(1):40-44.
39. Krespi Y, Rosenberg M. The relationship between oral malodor and volatile sulfur compounds producing bacteria. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004 Aug.; 131(2):212-3.

40. Kulkarni VV, Damle SG. Comparative evaluation of efficacy of sodium fluoride, chlorhexidine and triclosan mouth rinses in reducing the mutans streptococci count in saliva: an *in vivo* study. J Indian Soc Pedo Prev Dent. 2003 Sept.; 21(3):98-104.
41. Kuyyakanond T, Quesnel LB. The mechanism of action of chlorhexidine. FEMS Microbiol Lett. 1992 Dec.; 79(1-3):211-5.
42. Lai EY, Chyau CC, Mau JL, Chen CC, Lai YJ, Shih CF et al. Antimicrobial activity and cytotoxicity of the essential oil of *Curcuma zedoaria*. Am J Chin Med. 2004; 32:281-90.
43. Lauten JD, Boyd L, Hanson M B, Lillie D, Gullion C, Madden TE. A clinical study: melaleuca, manuka, calendula and green tea mouth rinse. Phytother Res. 2005; 19:951-7.
44. Lee C-H, Kho H-S, Chung S-C, Lee S-W, Kim Y-K. The relationship between volatile sulfur compounds and major halitosis-inducing factors. J Periodontol. 2003 Jan.; 74(1):32-7.
45. Lee PP, Mak WY, Newsome P. The aetiology and treatment of oral halitosis: an update. Hong Kong Med J. 2004 Dec.; 10(6):414-8.
46. Loe H, Schiött CR, Glaving L G, Karring T. Two years oral use of chlorhexidine in man. J Periodontol Res. 1976 June; 11(3):135-44.
47. Loesche WJ. The effects of antimicrobial mouthrinses on oral malodor and their status relative to US Food and Drug Administration regulations. Quintessence Int. 1999; 30(5):311-8.

48. Matsubara S, Rodriguez-Amaya DB. Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2006 abr./jun.; 26(2):401-7.
49. McKeown L. Social relations and breath odour [abstract on line]. *Int J Dent Hyg* [cited 2004 Oct. 22] 2003 Nov. 1(4):213-7. Disponível em: <http://gateway.ut.ovid.com/gwl/ovidweb.cgi>
50. McNamara T F, Alexander JF, Lee M. The role of microorganisms in the production of oral malodor. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1972 July; 34(1):41-8.
51. Meskin L H. A breath of fresh air. *J Am Dent Assoc.* 1996 Sept.; 127; 1282-1286.
52. Morita M, Wang H-L. Association between oral malodor and adult periodontitis: a review. *J Clin Periodontol.* 2001 Sept.; 28(9):813-9.
53. Moshrefi A. Chlorhexidine. *Periodontal Abstr.* 2002; 50(1):5-9.
54. Murata T, Yamaga T, Iida T, Miyazaki H, Yaegaki K. Classification and examination of halitosis. *Int Dent J.* 2002; 52(1-3):181-6.
55. Musteata FM, Pawliszyn J. Assay of stability, free and total concentration of chlorhexidine in saliva by solid phase microextraction. *J Pharm Biomed Anal.* 2005 Apr.; 37(5):1015-24.
56. Nakano Y, Yoshimura M, Koga T. Methyl mercaptan production by periodontal bacteria. *Int Dent J.* 2002; 52:217-20.

57. Navarro DF, Souza MM, Neto RA, Golin V, Niero R, Yunes RA, et al. Phytochemical analysis and analgesic properties of *Curcuma zedoaria* grown in Brazil. *Phytomedicine*. 2002 July; 9(5):427-432.
58. Newton APN, Cadena SMSC, Rocha MEM, Carnieri EGS, Oliveira MBO. New data on biological effects of chlorhexidine: Fe<sup>2+</sup> induced lipid peroxidation and mitochondrial permeability transition. *Toxicol Lett*. 2004 June; 151:407-416.
59. Nicherson WJ, Romano AH. Enzymatic reduction of cysteine by coenzyme I (DPNH). *Science*. 1952 June; 115:676-8.
60. Nicoletti M A, Orsine EMA, Zamur J, Tortamano N. Aspectos do emprego de fitoterápicos na higienização oral parte-1 – óleos essenciais. *Cosmetic & Toiletries*. 1997 set./out.; 9(5):30-4.
61. Oho T, Yoshida Y, Shimazaki Y, Yamashita Y, Koga T. Characteristics of patients complaining of halitosis and the usefulness of gas chromatography for diagnosing halitosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 2001 May; 91(5):531-4.
62. Ouhayoun JP. Penetrating the plaque biofilm: impact of essential oil mouthwash. *J Clin Periodontol*. 2003; 30(5):10-2.
63. Pannuti CM, Mattos JP, Ranoya PN, Lotufo RMF, Romito GA. Avaliação do efeito de um dentífrico herbal no controle de placa e gengivite [resumo PAI-013]. *Rev Period*. 2003 maio; 13(8):53.
64. Pastore RL, Fratellone P. Potential health benefits of green tea (*Camellia sinensis*): a narrative review. *Explore*. 2006 Nov./Dec. 2(6):531-9.

65. Pereira AV, Farago PV, Pereira FPM, Brito FS, Scaranello VFL. Análise de soluções aquosas magistrais de *Curcuma zedoaria* (bergius) roscoe. Publ UEPG Ci Biol Saúde. 2004 jun.; 10(2):39-47.
66. Person S, Edlund M, Claeson R, Carlson J. The formation of hydrogen sulfide and methyl mercaptan by oral bacteria. Oral Microbiol Immunol. 1990; 5:195-201.
67. Pistorius A, Willershausen B, Steinmeier EM, Kreisler M. Efficacy of subgingival irrigation using herbal extracts on gingival inflammation. J Periodontol. 2003 May; 74(5):616-22.
68. Pitts G, Pianotti R, Feary TW, McGuinness J, Masurat T. The *in vivo* effects of an antiseptic mouthwash on odor-producing microorganisms. J Dent Res. 1981 Nov.; 60(11):1891-6.
69. Pratten J, Pasu M, Jackson G, Flanagan A, Wilson M. Modelling oral malodour in a longitudinal study. Arch Oral Biol. 2003 Nov.; 48(11):737-43.
70. Quyrinen M. Management of oral malodour. J Clin Periodontol Suppl. 2003; 30(Suppl. 5):17-8.
71. Ratcliff PA, Johnson PW. The relationship between oral malodor, gingivitis, and periodontitis: a review. J Periodontol. 1999 May; 70(5):485-9.
72. Roldan S, Herrera D, O'connor A, Gonzalez I, Sanz M. A combined therapeutic approach to manage oral halitosis: a 3-month prospective case series. J Periodontol. 2005 June; 76(6):1025-33.

73. Roldan S, Herrera D, Santa Cruz I, O'Connor A, Gonzalez I, Sanz M. Comparative effects of different chlorhexidine mouth-rinse on volatile sulphur compounds and salivary bacterial counts. *J Clin Periodontol.* 2004; 31:1128-34.
74. Roldán S, Herrera D, Sanz M. Biofilms and the tongue: therapeutical approaches for the control of halitosis. *Clin Oral Invest.* 2003 Sept.; 7:189-97.
75. Roldan S, Winkel EG, Herrera D, Sanz M, Van Winkelhoff AJ. Free: Effects d'un nouveau bain de bouche contenant de la chlorhexidine, du chlorure de cétylpyridinium et du lactate de zinc sur la microflore de patients présentant une halitose: une etude contrôlée en double aveugle. *J Clin Periodontol.* 2003 May; 30(5): 427-34.
76. Rosenberg M. Clinical assessment of bad breath: current concepts. *J Am Dent Assoc.*; 1996 Apr.; 127: 475-81.
77. Rosenberg M, Kulkarni GV, Bosy A, McCulloch CAG. Reproducibility and sensitivity of oral malodor measurements with a portable sulphide monitor. *J Dent Res.* 1991; 70(11):1436-40.
78. Rosenberg M, Septon I, Eli I, Bar-Ness R, Brenner S, Gabbay J. Halitosis measurement by an industrial sulphide monitor. *J Periodontol.* 1991; 62(8):487-9.
79. Rösing CK, Jonski G, Rolla G. Comparative analysis of some mouthrinses on the production of volatile sulfur-containing compounds. *Acta Odontol Scand.* 2002 Jan.; 60:10-2.

80. Saito ST, Welzel A, Suyenaga ES, Bueno F. A method for fast determination of epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin (EC), catechin (C) and caffeine (CAF) in green tea using HPLC. *Ciênc. Tecnol Aliment.* 2006 Apr./Jun. 26(2):394-400.
81. Sakanaka S, Kim M, Taniguchi M, Yamamoto T. Antibacterial substances in Japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a cariogenic bacterium. *Agr Biol Chem.* 1989; 53(9):2307-2311.
82. Sandrini JC, Navarro DF, Rocha JCF, Ribeiro PG, Kozłowski Jr VA. Efeitos do extrato de *Curcuma zedoaria* sobre placa dental e gengivite em humanos – avaliação clínica. *Revista Period.* 1997; 6(supl):3-7.
83. Sanz M, Roldán S, Herrera D. Fundamentals of breath malodor. *J Contemp Dent Pract.* 2001 Nov; 2(4):1-17.
84. Senpuku H, Tada A, Yamaga T, Hanada N, Miyazaki H. Relationship between volatile sulphide compounds concentration and oral bacteria species detection in elderly. *Int Dent J.* 2004 June; 54(3):149-53.
85. Shapiro S, Giertsen E, Guggenheim B. An in vitro oral biofilm model for comparing the efficacy of antimicrobial mouthrinses. *Caries Res.* 2002; 36:93-100.
86. Silwood CJL, Grootveld MC, Lynch E. A multifactorial investigation of the ability of oral health care products (OHCPs) to alleviate oral malodour. *J Clin Periodontol.* 2001; 28:634-41.

87. Sreenivasan PK, Gittins E. Effects of low dose chlorhexidine mouthrinses on oral bacteria and salivary microflora including those producing hydrogen sulfide. *Oral Microbiol Immunol.* 2004 Oct.; 19(5):309-13.
88. Sterer N, Greenstein RBN, Rosenberg M. B- Galactosidase activity in saliva is associated with oral malodor. *J Dent Res.* 2002; 81(3):182-5.
89. Tanaka M, Anguri H, Nishida N, Ojima M, Nagata H, Shizukuishi S. Reliability of clinical parameters for predicting the outcome of oral malodor treatment. *J Dent Res.* 2003 July; 82(7):518-22.
90. Tagerman A. Halitosis in medicine: a review. *Int Dent J.* 2002; 52(3 Suppl.):201-06.
91. Tárzia O. Halitose. Rio de Janeiro: Publicações Científicas; 1996. 134p.
92. Tárzia O. Protocolo de atendimento clínico para prevenção, controle e tratamento da halitose. São Paulo: projeto SAUDBUCAL; 2000. 121p.
93. Tonzetich J. Direct gas chromatographic analysis of sulphur compounds in mouth air in man, *Archs Oral Biol.* 1971; 16:587-97.
94. Tonzetich J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and methods of analysis. *J Periodontol.* 1977 Jan.; 48(1):13-20.
95. Tonzetich J, Kestenbaum RC. Odour production by human salivary fractions and plaque. *Arch Oral Biol.* 1969; 14:815-27.

96. Tonzetich J, Richter VJ. Evaluation of volatile odoriferous components of saliva. *Arch Oral Biol.* 1964; 9:39-45.
97. Tonzetich J, Eigen E, King WJ, Weiss S. Volatility as a factor in the inability of certain amines and indole to increase the odour of saliva. *Arch Oral Biol.* 1967; 12:1167-75.
98. Waaler SM. Further in vivo studies on the plaque-inhibiting effect of chlorhexidine and its binding mechanisms. *Scand J Dent Res.* 1990 Oct.; 98(5):422-7.
99. Waaler SM. On the transformation of sulfur-containing amino acids and peptides to volatile sulfur compounds (VSC) in the human mouth. *Eur J Oral Sci.* 1997 Oct.; 105(5):534-7.
100. Warner RR, Myers MC, Burns J, Mitra S. Analytical electron microscopy of chlorhexidine-induced tooth stain in humans: direct evidence for metal-induced stain. *J Periodont Res.* 1993 July; 28(4):255-65.
101. Weesner BW. Curing halitosis: the sweet smell of success. *J Tenn Dent Assoc.* 2003; 83(4):20-4.
102. Wei GX, Wu CD. Black tea extract and polyphenols inhibit growth and virulence factors of periodontal pathogens [abstract-304]. *J Dent Res.* 2001; 80 (Supl.):73.
103. Wilson B, Abraham G, Manju VS, Mathew M, Vimala B, Sundaresan S, et al. Antimicrobial activity of *Curcuma zedoaria* and *Curcuma malabarica* tubers. *J Ethnopharmacol.* 2005 May; 99(1):147-51.

104. Winkel EG, Roldán S, Van Winkelhoff AJ, Herrera D, Sanz M. Free: effects d'un nouveau bain de bouche contenant de la chlorhexidine, du chlorure de cétylpyridinium et du lactate de zinc sur l'halitose buccale: une etude bi-centrique contrôlée par placebo en double aveugle. *J Clin Periodontol.* 2003 Apr.; 30(4):300-6.
105. Wu CD, Wei GX. Tea as a functional food for oral health. *Nutrition.* 2002; 18(5):443-4.
106. Xavier MN, Ramos INC, Xavier Filho L. A fitoterapia no combate às afecções bucais. Paraíba: Idéia; 1995. 212p.
107. Yaegaki K, Coil JM. Examination, classification, and treatment of halitosis; clinical perspectives. *J Can Dent Assoc.* 2000; 66:257-61.
108. Yaegaki K, Coli JM. Genuine halitosis, pseudo-halitosis, and halitophobia: classification, diagnosis, and treatment. *Compend Contin Educ Dent.* 2000 Oct.; 21(10A):880-9.
109. Yaegaki K, Coil JM, Kamemizu T, Miyazaki H. Tongue brushing and mouth rinsing as basic treatment measures for halitosis. *Int Dent J.* 2002; 52:192-6.
110. Yam TS, Shali S, Hamilton MJH. Microbiological activity of whole and fractioned crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components. *FEMS Microbiol Letters.* 1997; 152(1):169-74.
111. Young A, Jonski G, Rolla G. A study of triclosan and its solubilizers as inhibitors of oral malodor. *J Clin Periodontol.* 2002 Dec.; 29(12):1078-81

112. Young A, Jonski G, Rolla G. Variation in oral volatile sulphur compound formation. *Acta Odontol Scand.* 2002; 60(6):321-4.
113. Young A, Jonski G, Rolla G, Waler SM. Effects of metal salts on the oral production of volatile sulfur-containing compounds (VSC). *J Clin Periodontol.* 2001; 28:776-81.
114. Young A, Jonski G, Rolla G. Inhibition of orally produced volatile sulfur compounds by zinc, chlorhexidine or cetylpyridinium chloride - effect of concentration. *Eur J Oral Sci.* 2003 Oct.; 111(5):400-4.
115. Zegarelli DJ. Mouthwashes in the treatment of oral disease. *Drugs.* 1991; 42(2):171-73.

## Apêndice A – Termo de consentimento livre e esclarecido

### CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO AO PACIENTE

Eu, Vitor Hugo Farina, cirurgião dentista, aluno do curso de mestrado na área de Biopatologia Bucal, portador do RG 14412305-8 e CROSP 34281, sob orientação da Profa. Dra. Adriana Aigotti Haberbeck Brandão, portadora do RG 14138356 e CRMSP 30363, estabelecida profissionalmente na Disciplina de Patologia Geral, na Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP, Av. Francisco José Longo 777, na cidade de São José dos Campos, SP, cujo telefone de contato é (12) 39479037, estou desenvolvendo junto ao Programa de Pós-graduação desta faculdade uma pesquisa cujo título é “Estudo de Enxaguatórios Bucais Fitoterápicos e Seus Efeitos Sobre a Halitose”.

O objetivo desse estudo é analisar cientificamente as propriedades de ervas medicinais, normalmente usadas pela população para o alívio das afecções bucais sob a forma de enxaguatórios e seus efeitos no combate à halitose.

O projeto é constituído de testes práticos com alguns enxaguantes, em que serão medidos seus efeitos de redução do mau hálito.

Os produtos utilizados nos testes são absolutamente inócuos (não causam nenhum problema à saúde) e não representam nenhum custo financeiro ao participante.

Quatro manhãs (uma manhã por semana), serão suficientes para a realização dos trabalhos práticos.

As atividades iniciam-se por volta das 9 horas e terminam por volta das 12 horas (meio dia). Durante esse período, existem dois intervalos de descanso de cerca de 1 hora cada.

Das 9 às 9:30 são realizados os primeiros testes. As 9:30 o paciente é liberado, devendo retornar às 10:30. Novas medições e testes iniciam-se e o paciente é liberado novamente as 11:00. O paciente retorna as 12:00 para os testes finais e em seguida é dispensado.

Ressaltamos que sua participação é fundamental para o bom desenvolvimento da pesquisa e para que os resultados sejam confiáveis.

O participante terá total liberdade para uma eventual desistência durante os trabalhos, bem como acesso à qualquer informação sobre a pesquisa, em qualquer etapa da mesma. O projeto não acarretará nenhum gasto financeiro ao participante.

Para maiores informações o interessado poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, estabelecido na Av. Francisco José Longo 777, na cidade de São José dos Campos, cujo telefone de contato é (12) 39479037 e comunicar-se com a Profa. Dra. Adriana Aigotti Haberbeck Brandão, ou com Vitor Hugo Farina pelo telefone (12) 39426619.

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Acredito ter sido esclarecido a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo a pesquisa “Estudo de Enxaguatórios Bucais Fitoterápicos e Seus Efeitos Sobre a Halitose” e concordo em participar sabendo quais os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes, e que minha participação não implicará em nenhuma despesa. Concordo em participar voluntariamente desse estudo e com a publicação anônima dos dados gerados por ele. Poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidade, prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido.

Data.../.../....

Nome do Paciente.....RG.....

Endereço Completo.....

.....

Assinatura do paciente

.....

Assinatura do Pesquisador

## Apêndice B – Ficha clínica

<b>FICHA CLÍNICA</b> Observações		
Data do atendimento		
Nome		
Data do nascimento		
Local do nascimento		
Idade		
Sexo		
Cor		
Altura		
Peso		
Profissão		
O que faz		
Estado Civil		
Filhos		
Irmãos		
Endereço		
Telefone Residencial		
Telefone Comercial		
<b>Hábitos de Higiene</b>		
Higiene		
Dentífrício		
Escova		
Quantas vezes escova por dia		
Quanto tempo dura uma escova		
Usa fio dental		
Provoca sangramento durante o uso do fio dental		
Faz uso de bochechos		
Usa algum "spray"		
Costuma usar balas		
Costuma usar chicletes		
Usa alguma outra coisa que não foi perguntado		
<b>Saúde Bucal</b> Observações		
Cáries		
Impactações alimentares		
Tártaro		
Sangramento gengival		
Gengivite		
Alterações periodontais		
Descolamento gengival		
Bolsas periodontais		
Mobilidade dental		
Estomatites (aftas)		
Feridas cirúrgicas		
Uso de prótese fixa		
Uso de prótese móvel		

<b>Aparência da Língua</b>		
Língua geográfica		
Língua fissurada		
Coloração		
Edema		
Irritação		
Dor		
Ardência		
Saburra		
Alteração do paladar		
Perda do paladar		
<b>Descamação da Mucosa</b>		
Mordida da bochecha		
Mordiscamento da comissura labial		
Uso de aparelho ortodôntico		
Uso de prótese com grampos		
Respirador bucal		
Descamação nos pés		
Descamação vaginal		
Toma sol		
<b>Hipoglicemia</b>		
Observações		
Gosto diferente na boca		
Boca amarga		
Depressão		
Cansaço sem motivo		
<b>Xerostomia</b>		
Boca seca		
Ardência na boca		
Algum outro desconforto		
Olhos secos		
Costuma ter diarreia		
Regime para emagrecer		
Usa algum medicamento		
Sente-se "stressado"		
Tensão muscular no pescoço		
Bruxismo		
<b>Otorrinolaringologia ( problemas )</b>		
Sinusite		
Rinite		
Amigdalite		
Adenóides		
Desvio de septo		
Outros		
<b>Saúde Geral ( problemas )</b>		
Digestivos		

Intestinais		
Hepáticos		
Pulmonares		
Renais		
Diabetes		
Hipertensão		
Reumatismo		
Edema		
Pernas cansadas à tarde		
Problemas ginecológicos		
Alergias		
Doenças do tipo autoimune		
Problemas de Próstata (homem)		
Doença Cardiovascular		
Mal de Parkinson		
Glaucoma (tipo)		
Alguma outra doença que teve ou tem e não foi perguntado		
<b>Hábitos Inconvenientes</b>		
Fumo		
Bebidas		
Drogas		
<b>Sudorese</b>		
Suor muito abundante		
Onde transpira mais		
Usa desodorante antiperspirante		
<b>Hábito de Uso da Água</b>		
Quanto bebe de água por dia		
Sente muita sede		
Toma água entre as refeições		
Horário do banho		
<b>Outras Condições</b>		
Exercício físico violento		
Período menstrual		
Micose		
Frieira		
Cheiro forte nos pés		
Pomada aromática na pele		
Como está a memória		
Como está a pele		
<b>Uso de certos Alimentos</b>		
Salame	Ovo	Cebola
Mortadela	Repolho	Alho

Presunto	Couve	Sardinha
Lingüiça	Couve-flor	Pimenta
Carne gordurosa	Brócoli	Picles
Manteiga	Alcachofra	Condimentos
Margarina	Azeitona	Leite integral
Chocolate	Azeite	Queijo amarelo
Catchup	Mostarda	Frituras
<b>Esquema de Vida</b>		
Hora de acordar		
Café da manhã		
Intervalo		
Almoço		
Intervalo		
Jantar		
Após o jantar		
Hora de deitar		
Demora para dormir		
Têm insônia		
Acorda à noite		
Como é o sono		
Sonha		
<b>Alguns Sentimentos que Costumam Gerar Tensão com Redução do Fluxo Salivar</b>		
Nervosismo	Culpa	Intolerância
Impaciência	Depressão	Autoritarismo
Agitação	Angústia	Agressividade
Medo	Ciúme	Preocupação
Raiva	Insegurança	Desconfiança
Mágoa	Indecisão	Mania de limpeza
Tristeza	Exigência consigo	Timidez

1*dia data:	Hora	Valor medido
Hálito Inicial		
Fluimucil 1/10		
Enxaguante		
1 hora e meia após Fluimucil 1/10		
3 horas após Fuimucil 1/10		

3*dia data:	Hora	Valor medido
Hálito inical		
Fluimucil 1/10		
Enxaguante		
1 hora e meia após Fluimucil 1/10		
3 horas após Fuimucil 1/10		

2*dia data:	Hora	Valor medido
Hálito inical		
Fluimucil 1/10		
Enxaguante		
1 hora e meia após Fluimucil 1/10		
3 horas após Fuimucil 1/10		

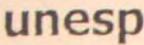
4*dia data:	Hora	Valor medido
Hálito inical		
Fluimucil 1/10		
Enxaguante		
1 hora e meia após Fluimucil 1/10		
3 horas após Fuimucil 1/10		

NOME:

TURMA/PERÍODO:

IDADE:

## Anexo – Certificado do comitê de ética



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
 CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS  
 FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
Av. Eng. Francisco José Longo, 777 - São Dimas - CEP 12231-970 - F. (12) 3947-9000 - FAX (12) 3947-9023

---

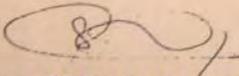

**Comitê de Ética em Pesquisa  
Envolvendo Seres Humanos**

São José dos Campos, 05 de junho de 2007

Ofício nº 036/07-CEP

Prezado(a) Sr.(a)	VITOR HUGO FARINA
Projeto	Estudo de enxaguatório bucais fitoterápicos e seus efeitos sobre a halitose
<b>PARECER</b>	
<p>Foi aprovada a emenda ao projeto acima mencionado, com referência a <b>ALTERAÇÃO DO NOME DO PROJETO</b>, passando para "EFEITO DAS PLANTAS MEDICINAIS CURCUNA ZEDOARIA E CAMELLIA SINENSIS NO CONTROLE DA HALITOSE". Convalidando dessa forma o Protocolo nº 075/2005-PA/CEP de 25/11/2005.</p>	

Atenciosamente,

  
 Profa.Dra. **SUELY CARVALHO MUTTI NARESSI**  
 Coordenadora do CEP/HUMANOS/FOSJC

Farina, VH. **Effects of the medicinal plants *Curcuma zedoaria* and *Camellia sinensis* on halitosis control**. 2007. 100f Dissertação (Mestrado em Biopatologia) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

### ABSTRACT

*Halitosis is a common oral condition and is difficult to treat. Volatile Sulphurated Compounds (VSC) are the gases mainly responsible for its formation. This research evaluated the effects of phytotherapy on halitosis control, measuring VSC with the aid of a Halimeter®. Two commonly used plants were tested: Curcuma zedoaria and Camellia sinensis. These plants were prepared as an aqueous extract and used as mouthwashes, compared to a standard mouthwash of 0.12% clorexidine gluconate and a placebo of water. The experiment was conducted with thirty volunteers from the São Paulo State University - UNESP in São José dos Campos, Brazil. All test subjects took part in the experiments with informed consent, after having received an explanation of the protocol approved by an ethical committee. Each volunteer attended once a week for four weeks. The Cysteine Challenge Method, modified for this study, was used for initial breath standardization. Four halitosis assessments were conducted after orally rinsing with acetilcisteine: one before using the test mouth wash, the second right after its use, a third 90min later, and the last three hours later. There was an interval of at least one week between the different tested substances. The results showed that clorexidine lowered VSC production immediately and lasted up to three hours, while the tested plants had a similar effect to the placebo. It can be concluded that Curcuma zedoaria and Camellia sinensis, prepared as an infusion and used as a mouthwash, do not have a neutralizing effect on VSC.*

**KEY WORDS:** *halitosis, bad breath, fitotherapy, medicinal plants, Curcuma zedoaria, Camellia sinensis, mouth wash, clorexidine, VSC – Volatile Sulphurated Compounds, halimeter.*