

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

NÍVEL DOUTORADO

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA/PERIODONTIA

Linha de pesquisa:

Biomateriais e Técnicas Terapêuticas em Odontologia.

Tese:

EFEITO DO ÓLEO DE COPAÍBA SOBRE O MICROBIOMA BUCAL

Doutoranda:

ANA LÚCIA DIEFENBACH

ORIENTADOR: CASSIANO KUCHENBECKER RÖSING

PORTO ALEGRE 2018

ANA LÚCIA DIEFENBACH

EFEITO DO ÓLEO DE COPAÍBA SOBRE O MICROBIOMA BUCAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Odontologia, área de concentração em Clínica Odontológica/Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Cassiano Kuchenbecker Rösing

Porto Alegre - 2018

CIP - Catalogação na Publicação

Diefenbach, Ana Lúcia
EFEITO DO ÓLEO DE COPAÍBA SOBRE O MICROBIOMA BUCAL
/ Ana Lúcia Diefenbach. -- 2018.
64 f.
Orientador: Cassiano Kuchenbecker Rösing.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Óleo de Copaíba. 2. Fitoterápicos. 3. Unidade Formadora De Colônia. 4. Diversidade. 5. Escala Hedônica. I. Kuchenbecker Rösing, Cassiano, orient. II. Título.

Dedico esta tese ao meu marido **Paulo Augusto Alves** (in memoriam) e meu afilhado **Hugo Benno** pelo amor e carinho nessa jornada.

AGRADECIMENTOS

Ao final desta jornada, em especial, gostaria de expressar meus agradecimentos:

A minha família, principalmente aos meus pais *Donard e Mayara Diefenbach* que me educaram e apoiaram meus passos.

A minha amiga-irmã *Naelka Sarmiento* que sempre me incentiva a seguir em frente, nunca desiste, sempre com muito otimismo e felicidade.

Ao meu orientador *Cassiano Kuchenbecker Rösing* pela sua disposição em ensinar, generosidade, exemplo de professor e competência. Minha gratidão.

Dedico aos meus sobrinhos *Hugo e Igor Diefenbach* que me ensinam a beleza da inocência de uma criança.

Ao *Francisco Montagner* pela amizade e disponibilidade em sempre ajudar. Muito obrigada.

Aos meus colaboradores *Thais Negrini, Rodrigo Arthur* muito obrigada pela dedicação, generosidade e ensinamentos. Minha gratidão.

Ao *Francisco Wilker Mustafa Gomes* muito obrigada por ser tão generoso em ensinar e por sua amizade. Minha gratidão.

Aos queridos *Harry Oballe, Marina Mendez e Gerson Langa* que sempre estiveram disponíveis em colaborar. Muito obrigada.

Aos amigos *Vanessa, Edson* e ao pequeno *Levi Braga* que são minha nova família em Porto Alegre. Meu muito obrigada.

Aos amigos Patológicos *Celso Tinôco, José Onofre, Juliana Figueiredo, Luciana Alencar, Márcia Rachel e Sávio Albuquerque* pelos anos de convivência e apoio.

Aos meus amigos Anaquelmas: *Diego Cordeiro e Rodrigo Kiyuna* obrigada pela amizade e apoio.

Aos queridos *Paula Barcellos da Silva e Otávio Sposito e Debora Delai* meus novos amigos endodontistas gaúchos.

À profa. Dra. *Maria Beatriz Cardoso Ferreira*, obrigada pelas conversas e por compartilhar seu conhecimento.

Ao prof. Dr. *Luciano Casagrande*, obrigada pela acolhida e palavras de estímulo e ajuda.

Aos colegas do Laboratório de Bioquímica e Microbiologia da UFRGS (LABIM), *Luisa Mercado e Ariel Rup*, obrigada pelo convívio de amizade.

À *Letícia Marconatto e Adriana Giongo Borges* que me sempre estiveram disponíveis a ajudar e compartilhar conhecimento.

A Universidade do Estado do Amazonas -UEA ESA- minha casa acadêmica. especialmente a Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade do Estado do Amazonas.

Aos Professores de Periodontia da UEA, em especial a *Profa. Gisele Tino e Profa. Izabelle Câmara* pela amizade e apoio para a realização deste Doutorado.

Aos professores da disciplina de Periodontia da UFRGS *Alex Haas, Tiago Fiorini, Eduardo Gaio, Juliano Cavagni, Sabrina Gomes, Patrícia Weidlich, Marilene Fernandes e Fernando Daudt*, obrigados disposição em ensinar e educar.

Agradeço à *Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)*, em especial ao programa de Pós-Graduação em Odontologia pela acolhida, oportunidade, pela infraestrutura, logística e principalmente a colaboração de seus funcionários e alunos que foram essenciais para o desenvolvimento e finalização de esta etapa de formação acadêmica.

Agradeço a *Nossa Senhora de Fátima* que nunca me abandona e me consola nos momentos mais difíceis.

“O saber a gente aprende com os mestres e os livros.

A sabedoria se aprende é com a vida e os humildes.”

Cora Coralina

RESUMO

A utilização de produtos naturais e fitoterápicos para cura de doenças é milenar. O interesse no desenvolvimento desses produtos é muito significativo e isso seria diferente na odontologia. Quando se avalia a etiologia das principais doenças da cavidade bucal, cárie e doença periodontal, pode-se fazer uma analogia de uma “batalha” frente a um microbioma complexo e, por vezes, muito agressivo. Como são doenças de origem infecciosa a utilização de mecanismos que impeçam ou estabilizem o processo patológico é de suma importância. A presente tese teve como objetivo principal, avaliar a utilização do óleo de copaíba frente ao microbioma bucal. Nesse sentido a tese se divide em 3 capítulos científicos, sendo uma revisão de literatura, uma revisão sistemática e um ensaio clínico randomizado. O primeiro capítulo de revisão de literatura procurou demonstrar o potencial do óleo de copaíba e suas aplicações na odontologia. O segundo capítulo, de revisão sistemática da literatura, elucidou a lacuna existente da ação do óleo de copaíba frente a patógenos orais. Esta revisão sistemática constatou que nenhum estudo clínico havia sido realizado utilizando óleo de copaíba frente às bactérias orais propostas no estudo. Assim, resultados promissores mostraram que o mesmo poderia ser utilizado na cavidade bucal, como forma de prevenção e tratamento da cárie e doença periodontal. No terceiro capítulo realizou-se um estudo clínico randomizado, avaliando o efeito imediato de enxaguatório contendo óleo de copaíba a 5% e 10%. Foram realizadas análises microbiológicas para caracterização das comunidades microbianas presentes em saliva e Análise Intergênica de Espaçadores Ribossômicos (RISA) além da análise da percepção gustativa (Escala Hedônica e gustativa). Os resultados mostraram que não houve uma diminuição significativa na contagem total de bactérias após a utilização dos enxaguatórios. Os resultados da análise de percepção gustativa mostraram que sensação do sabor doce foi o resultado predominante. A partir dos resultados obtidos nos artigos constituintes da presente tese e frente considerações realizadas, pode-se concluir que a utilização do óleo de copaíba frente a bactérias orais é comprovada nos estudos *in vitro*, mas recomenda-se estudos clínicos capazes de confirmar sua efetividade *in vivo*.

Palavras-chave: Óleo de Copaíba, Fitoterápicos, Saliva, Revisão Sistemática, Unidade Formadora de Colônia, Bactéria, Reação em Cadeia de Polimerase, Ecologia Microbiana, Diversidade, Escala Hedônica.

ABSTRACT

The use of natural and herbal products for diseases cure is millenarian. The interest in the development of this products is very significant and this would not be different in dentistry. When evaluating the etiology of the main diseases of the oral cavity, caries and periodontal disease, we can make an analogy of a "battle" against a complex and sometimes very virulent microbiome. As diseases of infectious origin are the use of mechanisms that prevent or stabilize the disease process is of paramount importance. The main objective of this thesis was to evaluate the use of copaiba oil against the oral *microbiome*. In this sense were produced 3 scientific articles, being a literature review, a systematic review and a randomized clinical trial. The first chapter of literature review sought to demonstrate the potential of copaiba oil and its applications in dentistry. The second chapter, a systematic review of the literature, elucidated the existing gap in the action of copaiba oil against oral pathogens. The systematic review found that no clinical study had been conducted using copaiba oil against the bacteria proposed in the study. Even so, promising results showed that could be used in the oral cavity as a form of prevention and treatment of caries and periodontal disease. In the third chapter, a randomized clinical study was executed, evaluating the immediate effect of 5% and 10% copaiba oil. Microbiological analyzes were performed to characterize the microbial communities present in saliva and Intergenic Ribosomal Spacer Analysis (RISA) in addition to the analysis of gustatory perception (Hedonic and gustatory scale). The results showed that there was no significant decrease in total bacterial counts after the use of mouthwashes. The results of the gustatory perception analysis showed that sweet taste sensation was the predominant result. From the results obtained in the articles of this thesis and the considerations made, it can be concluded that the use of copaiba oil against oral bacteria is proven *in vitro* studies, but clinical studies are recommended to confirm its effectiveness *in vivo*.

Key-words: Copaiba Oil, Herbal Medicine, Saliva, Systematic Review, Colony Forming Unit, Bacteria, Polymerase Chain Reaction, Microbial Ecology, Diversity, Hedonic Scale.

APRESENTAÇÃO

Esta tese é parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutora em Odontologia, com área de concentração em Clínica Odontológica/Periodontia pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Os objetivos acadêmicos desta tese vinculados à produção intelectual incluem produção científica e técnica em revistas de circulação nacional e internacional. Trata-se de uma tese composta por 3 artigos principais que têm por objetivo a apresentação de possibilidades de utilização do óleo de copaíba pela Odontologia. Abaixo são citados os três artigos que compõem esta tese:

Capítulo 1: Rösing, C.K & Diefenbach, A.L. (2018). Fitoterápicos Brasileiros: Há Espaço Para Uso Na Odontologia? - O Exemplo do Óleo de Copaíba. *International Journal of Brazilian Dentistry*, Florianópolis, v.14, n.2, p.108-110, abr-/jun. Esse artigo teve por objetivo a divulgação do conhecimento obtido a partir das revisões da literatura realizadas. Foi publicado em periódico de divulgação nacional, com penetração na comunidade Odontológica. Trata-se de um produto técnico procurando divulgar o conhecimento sobre o uso da copaíba na Odontologia.

Capítulo 2: Diefenbach, A.L., Muniz, F.W.M.G., Oballe, H.J.R., Rösing, C.K.(2017). Antimicrobial Activity of Copaiba Oil (*Copaifera Ssp.*) On Oral Pathogens: Systematic Review. *Phytotherapy Research*: ;1–11. Esse artigo foi publicado em um periódico de circulação internacional e teve por objetivo preencher uma lacuna na literatura a respeito dos efeitos do óleo de copaíba sobre a microbiota bucal, através de uma revisão sistemática da literatura.

Capítulo 3: Diefenbach, A.L., Negrini, T.C., Montagner, F., Borges, A.G., Sarmiento, N., Veiga Jr., V.F., Rösing, C.K. Efeito Imediato do Óleo De Copaíba (*Copaifera Multijuga* Hayne) Usado Como Enxaguatório Frente o Microbioma Bucal – Ensaio Clínico Randomizado. Esse artigo encontra-se em sua versão manuscrita final e após a defesa da tese será submetido ao periódico *Phytotherapy Research*. Trata-se de um ensaio clínico randomizado realizado em seres humanos, duplo-cego e controlado por placebo e

tratamento padrão, com o objetivo de avaliar o efeito imediato do bochecho com duas soluções de óleo de copaíba sobre o microbioma bucal.

Ao final da tese, são realizadas considerações finais, com o objetivo de fazer uma reflexão contextualizada das informações nela contidas.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	14
CAPÍTULO 1 - FITOTERÁPICOS BRASILEIROS: HÁ ESPAÇO PARA USO NA ODONTOLOGIA? – O EXEMPLO DE ÓLEO DE COPAÍBA	16
CAPÍTULO 2 - ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF COPAIBA OIL (<i>COPAIFERA ssp.</i>) ON ORAL PATHOGENS: SYSTEMATIC REVIEW	19
CAPÍTULO 3 - EFEITO IMEDIATO DO ÓLEO DE COPAÍBA (<i>COPAIFERA MULTIJUGA</i> HAYNE) USADO COMO ENXAGUATÓRIO FRENTE O MICROBIOMA BUCAL – ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO	30
CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
REFERÊNCIAS DA TESE	58
ANEXO 1-QUESTIONÁRIO DA PERCEPÇÃO GUSTATIVA	62
ANEXO 2- QUESTIONÁRIO DA ESCALA HEDÔNICA	63
ANEXO 3 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS)	64

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

DNA	ácido desoxirribonucleico
ATCC	American Type Culture Collection
UFC	Unidade Formadora de Colônia
<i>et al.</i> ,	e colaboradores
g	gramas
h	horas
mm	milímetro
mg	miligramas
min.	minutos
ml ou mL	mililitros
α	Alfa
β	beta
γ	gama
X	número de vezes
%	por cento
°C	Graus Celsius
μ l ou μ L	microlitros
μ g	microgramas
-	menos
+/-	mais ou menos
<	menor
>	maior

INTRODUÇÃO

A utilização de fitoterápicos, que são medicamentos obtidos a partir de plantas medicinais (Ministério da Saúde, 2016), e suas propriedades farmacológicas está cada vez mais em voga, por conta de cepas resistentes a antibióticos (Roberts, 2002; Breyers & Ratner 2004; Zaura *et al.*,2015). Sendo assim, o desenvolvimento científico a partir de plantas, óleos, extratos, tinturas está cada vez mais consolidado, tendo em vista que o seu uso associado ao tratamento preventivo poderia ajudar a reduzir e ou prevenir uma série de doenças.

Os óleos essenciais, como o óleo de copaíba, são elementos voláteis contidos em muitos órgãos vegetais e estão relacionados com muitas funções necessárias à sobrevivência vegetal e possuem papel fundamental na defesa contra a ação microbiana nas plantas (Gayoso *et al.*, 2004; Rigamonte Azevedo *et al.*, 2004).

Dos microrganismos colonizadores do biofilme dental o *Streptococcus mutans*, um dos agentes etiológicos da cárie dental, facilita a colonização de outros microrganismos, inclusive de anaeróbios (Takahash & Nyvad 2011, Ito *et al.*,2012). Assim, o controle do crescimento do *S. mutans* também leva a prevenção das doenças periodontais. Desta forma, substancias capazes de inibir sua colonização estariam colaborando na manutenção da saúde bucal (Juiz *et al.*, 2010). Estudos como o de Drumond *et al.*, (2004), Vasconcelos, *et al.*, (2008), Valdevite (2007), Pieri *et al.*,(2012), Simões *et al.*, (2016) mostraram, em estudos *in vitro*, atividade antibacteriana do óleo copaíba frente a esse microrganismo. A atividade do óleo de copaíba, frente s bactérias orais, é atribuída devido a sua composição de terpenos e sesquiterpenos que danificam a integridade da parede celular bacteriana (Santos *et al.*, 2008; dos Santos *et al.*,2013)

A manutenção da saúde bucal se dá, principalmente, através da remoção mecânica do biofilme (Oppermann *et al.*,2010). Porém, têm sido cada vez mais usual a orientação para o uso de enxaguatórios bucais após a aplicação de métodos mecânicos de controle do biofilme dentário. A utilização do controle químico dos diferentes biofilmes presentes no ambiente bucal é plenamente justificável face à facilidade de uso e sua comprovada eficiência (Bernimoulin 2003; Teles & Teles, 2009; Zanatta *et al.*, 2007).

Desta forma, que quando se pensa em saúde bucal o grande desafio é de manter a saúde dos tecidos periodontais e dentários, porém a recolonização resulta de uma terapia preventiva de manutenção falha e pode acarretar em uma doença recorrente (Arweiler *et al.*, 2018). Produtos naturais poderiam auxiliar no controle do crescimento do biofilme dental supra e subgingival (Pedrazzi 2009; Juiz *et al.*,2010).

O uso de substâncias antimicrobianas poderia tentar compensar a desmotivação para uma boa limpeza mecânica dos dentes (Cury, 1997). Soluções colutórias a base de clorexidina e óleos essenciais possuem ampla documentação e resultados positivos quanto a controle de biofilme e desfechos inflamatórios das gengivas (Van Leeuwen, Slot e Van der Weijden, 2011; Stoeken, Paraskevas e Van der Weijden, 2007) O efeito da clorexidina e a sua propriedade de substantividade torna-a o padrão ouro em eficácia, quando comparado com outros antissépticos. A clorexidina é antisséptica para microrganismos gram-positivos e gram-negativos e para algumas leveduras (Axelsson, 1981; Saleem, Seers, Sabri, & Reynolds, 2016). Porém, efeitos adversos associados ao uso da clorexidina, como: inativação na presença de sulfatos e cálcio (Van Grunsven & Cardoso, 1995), manchamento extrínseco no esmalte dentário, hiperplasia de papilas linguais e perda do sentido da gustação são condições que restringem seu uso, principalmente, no uso prolongado da substância (Ros-Llor & Lopez-Jornet, 2014).

Houve muitos avanços na terapia antimicrobiana, porém a resistência em relação aos patógenos continua a representar um problema clínico sério e crescente. Esse aumento da resistência leva a necessidade de novas pesquisas sobre agentes antimicrobianos (Silveira *et al.*,2006; D'Costa *et al.*,2006; Sommer *et al.*,2009). Embora estudos prévios da literatura descrevam a eficácia antimicrobiana do óleo de copaíba frente a bactérias orais, estudos, principalmente *in vivo*, devem ampliar e criar uma nova perspectiva para o desenvolvimento de substâncias fitoterápicas, que possam auxiliar na prevenção e tratamento da doença cárie e periodontal.

Novas Tendências

FITOTERÁPICOS BRASILEIROS: HÁ ESPAÇO PARA USO NA ODONTOLOGIA? – O EXEMPLO DO ÓLEO DE COPAÍBA

Brazilian herbal medicines: is there space for their use in dentistry? – The example of copaiba oil



Cassiano Kuchenbecker Rösing

Professor Titular de Periodontia da UFRGS
Rua Dr. Yaffe, 433/701, 91540-010 Porto Alegre, RS - Brasil
crosing@fedonsf.com



Ana Lúcia Diefenbach

Professora de Periodontia da Universidade do Estado do Amazonas
Doutoranda em Periodontia no Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFRGS

RESUMO

O uso de colutórios e de outras medidas coadjuvantes ao controle mecânico dos biofilmes dentários faz parte da cultura popular. Sabe-se que o conhecimento de diferentes agrupamentos humanos incorporou especialmente fitoterápicos ao arsenal preventivo-terapêutico para diferentes doenças. No que se refere à odontologia, o uso da malva foi por muito tempo parte da rotina como agente anti-inflamatório. Mais contemporaneamente, as descobertas sobre os efeitos da camomila no âmbito do processo inflamatório têm a colocado como uma alternativa especialmente em lesões inflamatórias de tecidos moles. O óleo de copaíba tem sido estudado mais recentemente, e suas aplicações na odontologia ampliaram-se. É um óleo essencial retirado de árvores nativas da região tropical da América Latina e também da África Ocidental que apresenta propriedades interessantes para a saúde bucal. Apresenta efeito antibacteriano, o que permite que seja sugerido como coadjuvante aos recursos mecânicos de higiene bucal. O objetivo desta coluna é apresentar parte das evidências que suportam a possibilidade de utilização do óleo de copaíba na odontologia.

ABSTRACT

The use of rinsing solutions as well as other adjuvant measurements for mechanical control of dental biofilms is part of folk culture. It is known that knowledge from different human groups incorporated especially herbal medicines to the preventive-therapeutic armamentarium for different diseases. In Dentistry, the use of mauve was, for ages, part of the routine due to its anti-inflammatory effects. Contemporarily, the discoveries about the effects of chamomile on inflammatory process has posed it as an alternative especially in inflammatory lesions of soft tissues. Copaiba oil has been studied more recently and its applications in Dentistry increased. It is an essential oil extracted from native trees from tropical regions of Latin America and West Africa that present interesting properties related to oral health. It has antibacterial effect, that allows for its use as an adjuvant to mechanical oral hygiene procedures. The aim of this text is to present part of the scientific evidence supporting the possibility of using copaiba oil in Dentistry.

Fitoterápicos são medicamentos obtidos a partir de plantas medicinais empregando-se exclusivamente drogas derivadas de vegetal (extrato, tintura, óleo, cera, exsudato, suco e outros).¹ O Brasil é um país privilegiado em relação ao emprego da fitoterapia, pois possui 25% da flora mundial e um patrimônio genético de grande potencial para o desenvolvimento de novos medicamentos, o que corresponde a mais de cem mil espécies, das quais menos de 1% tiveram suas propriedades avaliadas cientificamente para determinar uma possível ação medicinal.²

Há uma grande biodiversidade de plantas medicinais utilizadas de maneira empírica, porém com indicações consolidadas por séculos de interação cultural.³ Através do desenvolvimento científico e tecnológico das pesquisas, essas indicações vêm sendo evidenciadas, na tentativa de abrir novos horizontes terapêuticos e possibilitar seu uso diário na prática ambulatorial.⁴ Mais de 60% dos agentes anticarcinogênicos e anti-infecciosos aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA), nos Estados Unidos, são de origem natural.⁵ Existem relatos do uso de substâncias naturais na odontologia, entretanto em número limitado, principalmente no que diz respeito à ação clínica dessas substâncias sobre a microbiota da cavidade oral.

O Brasil reconheceu a importância dos fitoterápicos e decidiu incluir seu uso no Sistema Único de Saúde (SUS), permitindo que diversos profissionais pudessem prescrever tanto fitoterápicos quanto plantas medicinais como parte do tratamento de um paciente. A fim de padronizar a utilização, vários fitoterápicos foram incluídos na Relação Nacional de Medicamentos, um avanço significativo do país em políticas públicas, colocando o Brasil à frente de diversos países do mundo no uso de plantas medicinais reconhecidamente eficazes em suas indicações clínicas. Além disso, o Brasil estabeleceu uma política nacional que inclui, em seu escopo de atividades, o estímulo à pesquisa, inclusive com fontes de financiamento próprias.¹

No caso específico da odontologia, dois exemplos são dignos de nota. Historicamente, a malva tem sido utilizada após procedimentos odontológicos e até mesmo, de forma empírica, para tratamentos.⁶ Mais modernamente, estudos têm colocado a camomila como um importante agente no tratamento de lesões de tecidos moles.⁷ Esse potencial dos fitoterápicos deve estar no olhar da profissão para que possa usufruir de seus benefícios.

Nesta coluna damos destaque à copaíba. A copaíba é uma planta medicinal muito importante entre os povos da Amazônia por produzir um óleo-resina que é produto do metabolismo secundário do organismo vegetal. Os óleos essenciais compõem-se de elementos voláteis contidos em muitos órgãos vegetais, estão relacionados com muitas funções necessárias à sobrevivência vegetal e possuem papel fundamental na defesa contra a ação microbiana nas plantas. Tem sido estabelecido cientificamente que cerca de 60% dos óleos essenciais

têm propriedades antifúngicas e que 35% exibem propriedades antibacterianas.⁸

Na Amazônia, o óleo de copaíba é muito utilizado por suas propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas e cicatrizantes. Além disso, outras ações etnofarmacológicas desse óleo têm sido relatadas na literatura, como antiblenorrágico, antigonorreico, antisséptico, no tratamento da sífilis e cistite (aparelho urinário), antiasmático, expectorante, no tratamento da bronquite e de inflamações de garganta, pneumonia e sinusite (vias respiratórias), no tratamento da pele e mucosas como eczemas, psoríase e ferimentos, além de antitético, antitumoral (próstata) e no tratamento da leishmaniose e de dores de cabeça.⁹⁻¹¹

A copaíba pertence ao gênero *Copaifera* L., e há 28 espécies catalogadas nas regiões tropicais da América do Sul, das quais 16 são endêmicas do Brasil, tendo sua maior distribuição na terra firme da Amazônia.¹¹

Entre as espécies de copaíba mais abundantes destacam-se: *C. officinalis* (norte do Amazonas, Roraima, Colômbia, Venezuela e El Salvador), *C. guianensis* Desf. (Guianas), *C. reticulata* Ducke, *C. multijuga* Hayne (Amazônia), *C. confertiflora* Bth (Piauí), *C. langsdorffii* Desf. (Brasil, Argentina e Paraguai), *C. coriacea* Mart. (Bahia) e *C. cearensis* Huber ex Ducke (Ceará). As espécies desse gênero podem produzir óleo-resina em grandes quantidades.^{12,13}

Estudos fitoquímicos mostraram que o óleo de *C. multijuga* possui em sua composição ácidos graxos (ácido palmítico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido araquídico e ácido beênico) e também é composto essencialmente de misturas de sesquiterpenos e diterpenos. O ácido copálico, os sesquiterpenos β -cariofileno e o α -copaeno são os principais componentes, sendo o ácido copálico o componente mais comum, considerado um biomarcador para sua autenticidade.¹⁴

Vários dos compostos já isolados ou detectados nos óleos de copaíba tiveram propriedades farmacológicas descritas na literatura. Entre os sesquiterpenos, algumas propriedades, como antiúlcera,¹⁵ antiviral e antirrinovírus,¹⁶ são descritas para o α -curcumeno e o β -bisaboleno, este último também descrito como abortivo.¹⁷ O β -elemeno é descrito como anticâncer (cervico), e cariofileno e δ cadineno como anticarcinogênicos, sendo este último também bactericida (CMI 800 ug/ml).¹⁸

O óleo-resina de *Copaíba multijuga* apresenta em sua composição vários sesquiterpenos, principalmente β -cariofileno, α -humuleno, cedreno, cadineno e bisaboleno.¹⁹ Estudos demonstraram atividade antibacteriana do óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne ante *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sanguis*.²⁰⁻²²

Nesse sentido, publicamos uma revisão sistemática da literatura²⁴ sobre a utilização do óleo de copaíba como agente antimicrobiano contra bactérias bucais. Os resultados mostra-

ram, em sua maioria, um bom efeito antibacteriano, entretanto inferior à clorexidina. Isso colocaria a copaíba como um agente adicional a ser usado em colutórios ou até mesmo dentifrícios para compensar as dificuldades reconhecidas no controle mecânico dos biofilmes.

Deve-se salientar que o uso de plantas medicinais e seus constituintes pode gerar efeitos adversos, caracterizando, assim, um problema sério de saúde.¹⁰ Esses efeitos e as possíveis adulterações nos produtos e sua toxicidade, bem como a ação sinérgica com outras drogas, ocorrem comumente. Já com relação à copaíba, estudo recente demonstrou que a utilização óleo-resina de *Copaifera multijuga* por via oral possui baixíssima toxicidade aguda em ratos Wistar. Durante essa pesquisa não foram observados sinais externos de toxicidade, como piloereção, alteração de comportamento, da atividade locomotora e morte durante o experimento. Houve apenas alterações pontuais em alguns indicadores hematológicos e bioquímicos, o que, de forma geral, não interferiu na morfologia macro e microscópica dos tecidos.²⁵

Nesse sentido, entende-se que o óleo de copaíba tem grande potencial como fitoterápico. Ressalta-se que existe uma crescente demanda por produtos de origem natural que tragam benefícios. Assim, a copaíba coloca-se como um potencial candidato a ocupar espaços nesse nicho, tendo em vista suas propriedades biológicas e sua segurança.

REFERÊNCIAS

- Ministério da Saúde. Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde; 2016.
- Castilho AR, Murata RM, Pardi V. Produtos naturais em odontologia. Rev Saúde, 2007;1(1):11-9.
- Borrás MRL. Plantas da Amazônia: medicinais ou mágicas? plantas comercializadas no Mercado Municipal Adolpho Lisboa. Manaus: Valer; 2003.
- Evangelista SS, Sampaio FC, Parente RC, Bandeira MFCL. Fitoterápicos na odontologia: estudo etnobotânico na cidade de Manaus. Rev Bras Plant Med, 2000;4(15):513-9.
- Cragg GM, Newman DJ, Snader KM. Natural products in drug discovery and development. J Nat Prod, 1997;60(1):52-60.
- Oliveira SG, de Moura FR, Demarco FF, Nascente Pda S, Pino FA, Lund RG. An ethnomedicinal survey on phytotherapy with professionals and patients from basic care units in the Brazilian Unified Health System. J Ethnopharmacol, 2012 Mar 27;140(2):428-37.
- Worthington HV, Clarkson JE, Bryan G, Furness S, Glenny AM, Littlewood A, et al. Interventions for preventing oral mucositis for patients with cancer receiving treatment. Cochrane Database Syst Rev, 2010 Dec 8;(12):CD000978.
- Gayoso C, Lima E, Souza E. Ação inibitória do óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* Blume, α -pineno e β -pineno sobre fungos isolados de onicomicoses. J Bras Fitomed, 2004;1(1-4):25-9.
- Tobouti LP, Martins TCA, Pereira TJ, Mussi MCM. Antimicrobial activity of copaiba oil: a review and a call for further research. Biomed Pharmacother, 2017;94:93-9.
- Veiga Junior VF, Pinto AC, Maciel MAM. Plantas medicinais: cura segura. Química Nova, 2005;28(3):519-28.
- Rigamonte-Azevedo OC, Wadt PGS, Wadt LHO. Copaiba: ecologia e produção de óleo-resina. Embrapa Agro Doc, 2004(91):28.
- Veiga Junior VF, Pinto AC. O gênero *Copaifera* L. Química Nova, 2002;25(2):273-86.
- Veiga Junior VF, Zunino L, Calixto J B, Patlucci ML, Pinto AC. Phytochemical and antioedematogenic studies of commercial copaiba oils available in Brazil. Phytother Res, 2001;15(6):476-80.
- Soares J, Vareão M, Wolter Filho W, Mourão A, Craveiro AAR, Alencar JC. Estudo químico de óleos essenciais, oleaginosas e láticas da Amazônia I: composição e oxidação do óleo de uma espécie de *Copaifera*. Acta Amaz, 2003;9:45-51.
- Yamahara J, Hatakeyama S, Taniguchi K, Kawamura M, Yoshikawa M. Stomachic principles in ginger. II. Pungent and anti-ulcer effects of low polar constituents isolated from ginger, the dried rhizoma of *Zingiber officinale* Roscoe cultivated in Taiwan. The absolute stereostructure of a new diarylheptanoid. Yakugaku Zasshi, 1992;112(9):645-55.
- Denyer CV, Jackson P, Loakes DM, Ellis MR, Young DA. Isolation of antirhinoviral sesquiterpenes from ginger (*Zingiber officinale*). J Nat Prod, 1994;57(5):658-62.
- Pei-Gen X, Nai-Gong W. Can ethnopharmacology contribute to the development of anti-fertility drugs? J Ethnopharmacol, 1991;32(1-3):167-77.
- Muroi H, Kub I. Combination effects of antibacterial compounds in green tea flavor against *Streptococcus mutans*. J Agric Food Chem, 1993;41(7):1102-5.
- Bandeira MFCL, Oliveira MRB, Benatti-Neto C, Camelli Lia RCC. Estudo comparativo da compatibilidade biológica em molares de rato do óleo essencial e da resina da *Copaifera multijuga* (óleo de copaíba), associados ao hidróxido de cálcio. J Bras Clin Estet Odontol, 1999;3(16):42-9.
- Vasconcelos AFFD, Godinho OES. Uso de métodos analíticos convencionados no estudo da autenticidade do óleo de copaíba. Química Nova, 2002;25(6B):1057-60.
- Simões CADG, Conde NCO, Venâncio GN, Milério PSL, Bandeira MF, da Veiga Junior VF. Formulação de um gel de óleo de copaíba (*Copaifera multijuga*) e avaliação de sua atividade antibacteriana sobre cepas de *Streptococcus* sp. isoladas da placa dental. Open Dent J, 2016;10(Suppl-1, M6):188-95.
- Vasconcelos KRF, Veiga Junior VF, Rocha WC, Bandeira MFCL. Avaliação in vitro da atividade antibacteriana de um cimento odontológico à base de óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne. Rev Bras Farmacog, 2006;18(sup):733-8.
- Dietenbach AL, Muniz FWMG, Oballe HJR, Rösing CK. Antimicrobial activity of copaiba oil (*Copaifera* spp.) on oral pathogens: systematic review. Phytother Res, 2017;1-11.
- Gonçalves ES, Silva JR, Gomes CL, Nery MBL, et al. Effects of the oral treatment with *Copaifera multijuga* oil on reproductive performance of male Wistar rats. Rev Bras Farmacog, 2014;24:355-62.

REVIEW

Antimicrobial activity of copaiba oil (*Copaifera* spp.) on oral pathogens: Systematic review

Ana Lúcia Diefenbach | Francisco Wilker Mustafa Gomes Muniz  | Harry Juan Rivera Oballe | Cassiano Kuchenbecker Rösing

Department of Periodontology, Federal University of Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos, 2492 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

Correspondence

Francisco Wilker Mustafa Gomes Muniz, Department of Periodontology, Federal University of Rio Grande do Sul, Rua Ramiro Barcelos 2492, ZIP Code: 90035-003, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.
Email: wilkermustafa@gmail.com

Copaifera spp. produces an oil-resin that presents antiinflammatory, antitumor, antiseptic, germicidal, antifungal, and antibacterial activity. This systematic review aimed to analyze the antimicrobial action of Copaiba oil against oral pathogens, when compared to that of control substances. A search on Medline/PubMed, LILACS, SciELO, EMBASE, and SCOPUS databases were performed up to March 2017. To be included, the studies needed to perform any antimicrobial activity essay, using copaiba oil and a control substance. The antimicrobial effect of each substance, in each study, was extracted. Eleven studies were included, and several copaiba species were used. All studies showed that copaiba oil, regardless of its species, presented a bactericidal and/or bacteriostatic effect in *in vitro* analyzes. Only one study showed that the antimicrobial effect of the *Copaifera officinalis* was similar to the one found in chlorhexidine. A higher risk of bias was detected in most of the included studies. The studies demonstrated that the antimicrobial activity of copaiba oil, in most cases, is lower than chlorhexidine, which is considered the gold standard. However, there is great potential against oral bacteria. Further high quality studies are warranted in order to assess the efficacy of copaiba oil on oral pathogens.

KEYWORDS

copaiba balsam, microbiology, oral cavity, phototherapy

1 | INTRODUCTION

The most prevalent oral diseases—caries and periodontal disease—have bacterial plaque (dental biofilm) as their primary cause. Caries is characterized by the loss of mineral from the dental surface due to the acids produced by oral bacteria when they come into contact with fermentable carbohydrates (Mäkinen & Philosophy, 1972). Periodontal disease is characterized by local infection and inflammation in tooth-bearing tissues (Chapple, 2009). Both caries and periodontal disease can lead to tooth loss. Thus, dental biofilm plays a fundamental role in the pathogenic process of oral diseases (Chenicheri, R, Ramachandran, Thomas, & Wood, 2017; Wolff, Frese, Maier-Kraus, Krueger, & Wolff, 2013). This way, the prevention and treatment of caries and periodontal disease benefit from antimicrobial strategies (Nazar Majeed, Philip, Alabsi, Pushparajan, & Swaminathan, 2016; Serrano, Escribano, Roldán, Martín, & Herrera, 2015; Wang et al., 2017).

Several treatments are proposed to treat both caries and periodontal disease (Bjørndal et al., 2010; Claffey, Polyzois, & Ziaka, 2004; Cobb, 2002; Graziani, Karapetsa, Alonso, & Herrera, 2017;

Singhal, Acharya, & Thakur, 2016). However, the search for new therapies, especially those that used natural products with large efficacy and low cost, are warranted.

Essential oils are constituted by volatile and resinous elements that are present in many plant organs and are related to many functions specific to plant survival and play a fundamental role in the defense against microbial action (Islam et al., 2016; Siqui, Sampaio, Sousa, Henriques, & Ramos, 2000). About 60% of the oil-resin has antifungal properties and 35% exhibits antibacterial properties (Bakkali, Averbeck, Averbeck, & Idaomar, 2008).

The antimicrobial properties of oil-resin, such as copaiba oil, are due to their lipophilic properties (Bakkali et al., 2008). The hydrophobicity of the oil-resin allows an interaction between the oil and the lipids of the cell membrane, interfering in its permeability and causing changes in its structure (Costa et al., 2011). Diseases such as otitis, pharyngitis, and skin wounds have been treated empirically for millennia using this herbal component, mainly by the inhabitants of the Amazon Region (Souza-Júnior, Damous, & Lamarão, 2000; Veiga Júnior, Zunino, Calixto, Patitucci, & Pinto, 2001). Studies have shown

that copaiba oil has potential against several bacteria (Pacheco, Barata, & Duarte, 2006; Santos et al., 2008a; Ziech et al., 2013).

The growing demand for new bioactive compounds is based on the knowledge that some medicinal plants often have antimicrobial activity (Cirmi, Bisignano, Mandalari, & Navarra, 2016; Ghuman et al., 2016; Palombo, 2011; Sharifi-Rad et al., 2017; Smith-Hall, Larsen, & Pouliot, 2012). Therefore, experimental studies are essential to confirm the possible antibiotic properties of a large number of these plants and their derivatives.

The copaiba oil-resin is obtained from the trunk of several *Copaifera* species. These trees are native to the tropical regions of Latin American and Western Africa. In Brazil, there is more the twenty species of *Copaifera*, and the most abundant are *C. officinalis* L., *C. guianensis* Desf., *C. reticulata* Ducke, *C. multijuga* Hayne, *C. confertiflora* Bth., *C. langsdorffii* Desf., *C. coriacea* Mart., and *C. cearensis* Huber ex Ducke (Rigamonte-Azevedo, Wadt, & Wadt, 2004). The oil-resin of copaiba is composed of a solid part, a nonvolatile resinous, and diterpene acids (Cascon & Gilbert, 2000; Rigamonte-Azevedo et al., 2004). The pure oil composition is composed by diterpenes and sesquiterpenes. Their concentrations may vary substantially, according to species variations and other biological factors, such as presence of fungi and insects (Cascon & Gilbert, 2000; Veiga Júnior, Pinto, & Maciel, 2005).

In Brazil, several phytotherapeutic products are used with no scientific evidence of their efficacy. On the other hand, copaiba oil-resin is a vegetal exudate composed of resin acids in diterpenes and sesquiterpenes with some interesting biological properties, such as antiinflammatory, antimicrobial, antitumor, antileishmanial, increased wound healing, and antiseptic (da Silva, Geris, Rodrigues Filho, Rocha, & da Silva, 2007; Leandro et al., 2012; Paiva, Gurgel, Campos, Silveira, & Rao, 2004; Pieri, Mussi, Fiorini, & Schneedorf, 2010; Santos et al., 2008b; Veiga Junior, Rosas, Carvalho, Henriques, & Pinto, 2007). Copaiba oil is an oil-resin, as it is an exudate composed of resinous acid and volatile compounds. In the literature, copaiba oil is also wrongly called as balsam, as it contains no derivatives of benzoic or cinnamic acid (Veiga Júnior, Patitucci, & Pinto, 1997; Veiga Junior & Pinto, 2002).

To date, there have been no systematic reviews of the literature focusing on the action of copaiba oil in relation to oral pathogens. The objective of the present systematic review was to analyze whether *Copaifera* oil (*Copaifera* spp.) is capable of leading to a bactericidal or bacteriostatic action against oral microorganisms, in comparison to other antimicrobial agents or control solutions, generating a new possibility of prevention/treatment of caries and periodontal diseases.

2 | MATERIAL AND METHODS

2.1 | Focused question

This systematic review followed the PRISMA-P 2015 checklist (Moher et al., 2015). The present study is based on the following question: "Is there a real antimicrobial action in the use of copaiba oil against oral pathogens when compared to other chemical agents, herbal medicines or placebo?" In this way, PICO question involved the following aspects:

- **Problem:** oral microbiota bacteria;
- **Intervention:** copaiba action;
- **Comparison:** other solutions (phytotherapics, chlorhexidine and/or chloramphenicol) and placebo solutions;
- **Outcome:** Any analysis of antimicrobial action for the following bacteria:
 - *Porphyromonas gingivalis*
 - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
 - *Tannerella forsythia*
 - *Fusobacterium nucleatum*
 - *Treponema denticola*
 - *Streptococcus mutans*
 - *Streptococcus sobrinus*
 - *Streptococcus sanguinis*

2.2 | Search strategy and selection of studies

All articles were selected from the following electronic databases: Medline/PubMed, LILACS, SciELO, EMBASE, and SCOPUS. Sensitivity analysis strategies were developed for each database using a combination of free terms and MeSH terms/terms specific to each database.

Studies that performed *in vitro* microbiological analysis that used saliva or biofilm collection from humans were selected. In addition, microbiological culture assays were also considered. The exclusion criteria were review articles, case reports, letters to the editor, observational studies, and animal studies.

Two investigators independently performed (ALD and FWMGM) the studies selection according to the aforementioned criteria. Regarding study selection, the kappa coefficient between the two researchers was 0.98. A third reviewer was involved in this process only in case of discrepancy (CKR).

The following search strategy was performed on PubMed-MEDLINE database:

- #1 - copaiba oleoresin [MeSH Terms] OR "Plant Extracts" [Text Word] OR copaiba [Text word] OR *Copaifera* [Mesh Term] OR "copaiba oil" [Text Word] OR *Copaifera* [Text Word]
- #2 - Bacteria[MeshTerms] OR Bacteria[Text Word] OR *Streptococcus mutans* [Text word] OR *Porphyromonas gingivalis*[Text word] OR *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*[Text Word] OR *Tannerella forsythia*[Text word] OR *Fusobacterium nucleatum*[Text Word] OR *Treponema denticola*[Text Word] OR *streptococcus sobrinus*[Text word] OR *Streptococcus sanguis*[Text word] OR "Oral pathogens"[Text word] OR "oral microorganisms"[Text word] OR antimicrobial[Text word] OR antibacterial[Text word] OR "minimal inhibitory concentration"[Text Word] OR MIC[Text word]
- #3 - dental plaque[MeshTerm] OR Saliva[MeshTerm] OR saliva[Text word] OR biofilms[Mesh Term] OR biofilms[Text Word] OR oral cavity[Mesh Term] OR "oral cavity"[Text word] OR "dental biofilm"[Text Word] OR periodontal diseases[MeSH Terms] OR "periodontal disease"[Title/Abstract] OR periodontitis[Title/

Abstract] OR Dental Caries[Mesh Terms] OR "Dental Caries"[Text Word] OR ATCC[Text Word] OR Type Culture Collection[Text word] OR "bacterial strain"[Text Word]

#4 - #1 AND #2 AND #3

In other databases, an adaptation of this search strategy was used. The search was carried out in March 2017. The lists of references of related review articles and all included studies were checked for eligibility. No restriction about the language or date of publication was applied. Additionally, a hand search was performed in the following Journals: Revista Brasileira de Plantas Medicinais and Revista Brasileira de Farmacognosia.

2.3 | Data extraction

The data extraction for the present study was done in an Excel spreadsheet developed specifically for this systematic review. Two researchers performed this process independently (ALD and HJRO). A third reviewer was involved only in case of discrepancy (CKR).

The primary outcome was the antimicrobial activity of copaiba oil. The other outcomes, such as antiinflammatory action, were considered as secondary outcomes. In addition, other information was extracted as follows: author's name, year of publication, and country of origin of the study, which *Copaifera* oil was used, which oral pathogens were evaluated for antimicrobial action, which control group and which type of substance was used and additional observations.

2.4 | Analysis of risk of bias

The risk of bias of included studies was assessed independently by two researchers (ALD and FWMGM), following the criteria proposed by the Joanne Briggs Institute (Joanna Briggs Institute, 2014). A third reviewer was involved in this case in case of discrepancy (CKR). The scale has 10 questions, two of which were not considered for the present study, because they do not agree with bias analyzes for *in vitro* studies. Therefore, the following questions were evaluated:

- Was the assignment to treatment groups truly random?*
- Was allocation to treatment groups concealed from the allocator?*
- Were those assessing the outcomes blind to the treatment allocation?*
- Were control and treatment groups comparable at entry?*
- Were groups treated identically other than for the named interventions?*
- Were outcomes measured in the same way for all groups?*
- Were outcomes measured in a reliable way?*
- Was appropriate statistical analysis used?*

Each question was answered and when enough information was available, a "Yes" answer was given, which is equivalent to a low risk of bias. In case of non-existent information, the "No" answer was given for this criterion, the equivalent of high risk of bias. The "not clear" response was attributed when high or low risk of bias could not be classified.

2.5 | Dealing with missing data

Authors were contacted, by electronic mail or telephone, when missing data were essential for developing the review.

2.6 | Search for heterogeneity

Heterogeneity was ascertained by the types of copaiba oil, interventions, and outcomes used in each study. In this way, a meta-analysis could not be performed, because the studies showed high heterogeneity, making it impossible to make similar comparisons for measuring the outcomes.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

Four thousand five hundred and thirty-five titles/abstracts were retrieved from the search strategy, of which 2,474 were excluded for being duplicated. Based on the previously described criteria, 84 full titles were evaluated, of which 11 were selected (Bardaji et al., 2016; Bari et al., 2016; Conde et al., 2015; da Silva Moraes et al., 2016; Dias et al., 2015; Pieri et al., 2010; Pieri, Mussi, Fiorini, Moreira, & Schneedorf, 2012; Simões et al., 2016; Souza et al., 2011; Souza et al., 2011; Vasconcelos, Veiga Júnior, Rocha, & Bandeira, 2008). The reasons for the exclusion are expressed in Figure 1. The main characteristics of the selected studies and the main results are presented in Table 1.

Different species of copaiba were used, as follows: *Copaifera reticulata* (Bardaji et al., 2016), *C. multijuga* (Bari et al., 2016; Conde et al., 2015; Simões et al., 2016; Vasconcelos et al., 2008), *C. langsdorffii* (Dias et al., 2015; Souza et al., 2011; Souza et al., 2011), *C. oblongifolia* (da Silva Moraes et al., 2016), *C. officinalis* (Pieri et al., 2010; Pieri et al., 2012). The studies were essentially *in vitro*, and the main test was minimum inhibitory concentration (Bardaji et al., 2016; Bari et al., 2016; da Silva Moraes et al., 2016; Dias et al., 2015; Pieri et al., 2012; Souza et al., 2011; Souza et al., 2011), followed by colony-forming units (Pieri et al., 2010; Simões et al., 2016; Vasconcelos et al., 2008). Minimum bactericidal concentration (da Silva Moraes et al., 2016), and minor inhibitory concentration of adhesion (Conde et al., 2015) were less used methodologies. All studies, except one (Vasconcelos et al., 2008), used chlorhexidine as a positive control group.

Copaiba oil, regardless of its genus, presented results of bactericidal and/or bacteriostatic effect. The most studied microorganisms against copaiba in this systematic review were *Streptococcus mutans* (Bardaji et al., 2016; Bari et al., 2016; Conde et al., 2015; da Silva Moraes et al., 2016; Dias et al., 2015; Pieri et al., 2010; Pieri et al., 2012; Simões et al., 2016; Souza et al., 2011; Vasconcelos et al., 2008) followed by *Streptococcus sanguinis* (Bardaji et al., 2016; da Silva Moraes et al., 2016; Simões et al., 2016; Souza et al., 2011; Vasconcelos et al., 2008), *Streptococcus sobrinus* (Bardaji et al., 2016; Conde et al., 2015; da Silva Moraes et al., 2016; Souza et al., 2011), *Fusobacterium nucleatum* (Bardaji et al., 2016; Souza et al., 2011), *Porphyromonas gingivalis* (Bardaji et al., 2016; da Silva Moraes et al., 2016; Dias et al., 2015; Souza et al., 2011), and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (da Silva Moraes et al., 2016; Dias et al., 2015). Only one study demonstrated that copaiba oil presented

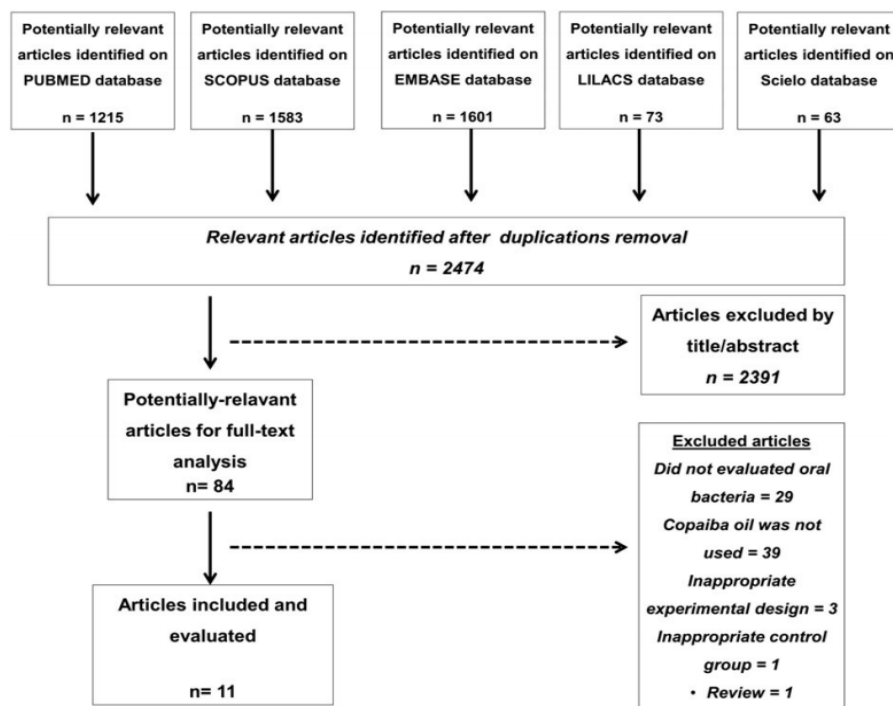


FIGURE 1 Flowchart of the included studies

antimicrobial effect similar or superior to the positive control used (Pieri et al., 2010). It was verified that the results of copaiba oil are superior to the negative control groups in terms of antimicrobial action in all studies. To most of the included studies, no statistical analysis was performed comparing copaiba and control groups (Conde et al., 2015; da Silva Moraes et al., 2016; Pieri et al., 2012; Souza et al., 2011; Souza et al., 2011; Vasconcelos et al., 2008).

The risk of bias in the studies was assessed according to the criteria described by the Joanna Briggs Institute. Figure 2 shows the risk of bias found in the studies included in this review. It was observed in this analysis that all studies presented an unclear risk of bias for randomization, allocation concealment, and blinding of the evaluators. Hence, appropriate statistical analysis was performed only in five of the 11 featured items (Bardaji et al., 2016; Bari et al., 2016; Dias et al., 2015; Pieri et al., 2010; Simões et al., 2016). In addition, in two other articles, the statistical analysis is not clear (Souza et al., 2011; Souza et al., 2011). The other characteristics of the studies, which include the groups' comparability at baseline, identical treatments, and outcome measures carried out in a comparable and reliable manner showed no risk of bias in all studies.

In the present systematic review, generally, it was showed that copaiba presents antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative oral cavity pathogens, which gives it promising possibilities for various formulations in oral care. Diterpenes are an important class of plant metabolites for the search of new antibacterial agents, which is present in the copaiba oils. However, the main mechanism responsible for this property has not yet been very well elucidated in the literature (Urzúa, Rezende, Mascayano, & Vasquez, 2008). It has been suggested that diterpenoids derive their activity from their ability

to overpass or damage bacterial cell membranes (Matsingou et al., 2005).

In one of the included studies, *C. reticulata* antibacterial action was attributed to the presence of diterpenes, such as ent-copallic acid, ent-agathic-15-methyl ester, and ent-polyalthic acid (Bardaji et al., 2016). Moreover, other studies evaluated diterpenes and terpenoids from *C. langsdorffii* and concluded that copallic acid did not demonstrate higher antimicrobial activity in comparison to chlorhexidine (Souza et al., 2011; Souza et al., 2011). On the other hand, these chemical products showed bactericidal and bacteriostatic actions, which make it an important metabolite in the search for an effective antimicrobial agent. Most of the copaiba species showed a lower antibacterial activity when compared to chlorhexidine (Bardaji et al., 2016; Conde et al., 2015; da Silva Moraes et al., 2016; Dias et al., 2015; Pieri et al., 2012; Simões et al., 2016).

C. officinalis was the only copaiba species to demonstrate higher antimicrobial activity when compared to chlorhexidine, showing a significantly higher inhibition halo (Pieri et al., 2010). Several studies reported other important effect of the *C. officinalis*, including antimicrobial effect on non-oral bacterial species (Santos et al., 2008a), gastroprotective effect on induced gastric ulcers (Arroyo et al., 2009), and antiinflammatory effect on gynecological inflammation (Francisco, 2005). On the other hand, in another study, using the same copaiba species, demonstrated that MIC of copaiba was higher in comparison to chlorhexidine MIC (Pieri et al., 2012). Therefore, it may be hypothesized that copaiba species rather than the components may be the main responsible for the higher antimicrobial activity. Moreover, different antimicrobial tests must be used to assess properly copaiba oil efficacy.

TABLE 1 Main characteristic and main results of the included studies

Author/ year/ country	Copaiba used	Control group	Bacterial species evaluated and main results for copaiba and control groups	Significant difference between copaiba and control? (p-value)	
Bardaji et al., 2016 BR	<i>Copaifera reticulata</i>	Chlorhexidine 2%	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC— MIC/MBC/MICB/time kill: 50 µg/ml (copaiba) and 0.922 µg/ml (control). <i>Streptococcus mutans</i> ATCC— TDC: 50 µg/ml (copaiba) and 29.5 µg/ml (control). <i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC —MIC/MBC: 50 µg/ml (copaiba) and 1.844 µg/ml (control). <i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC —MIC/MBC: 50 µg/ml (copaiba) and 1.844 µg/ml (control).	<i>Streptococcus sanguinis</i> clinical isolated—MIC/ MBC: 25 µg/ml (copaiba) and 7.375 µg/ml (control). <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC—time kill: 12.5 µg/ml (copaiba) and 3.688 µg/ml (control). <i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC— time kill: 50 µg/ml (copaiba) and 3.688 µg/ml (control).	? (to all analyses)
Bari et al., 2016 BR	<i>Copaifera multijuga</i> Hayne (emulsions at 10% or 30%)	Chlorhexidine 2%	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC— MIC: 125 µg/ml (for 10% and 30% copaiba) and ? (control).	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC— MBC: 175 µg/ml (for 10% copaiba), 125 µg/ml (for 30% copaiba) and ? (control). The control group presented bactericidal activity.	? (to all analyses)
da Silva Morales et al., 2016 BR	<i>Copaifera oblongifolia</i>	Chlorhexidine from 0.115 to 59 µg/ml	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC— MIC:100 µg/ml (copaiba) and 0.92 µg/ml (control). <i>Streptococcus mutans</i> ATCC— MBC: 200 µg/ml (copaiba) and 0.92 µg/ml (control). <i>Streptococcus mutans</i> ATCC— MIC ₅₀ : 200 µg/ml (copaiba) and 3.688 µg/ml (control). <i>Streptococcus mutans</i> ATCC— time kill: 200 µg/ml (copaiba) and 0.922 µg/ml (control). <i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC —MIC/MBC 400 µg/ml (copaiba) and 1.84 µg/ml (control). <i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC —MIC/MBC: 100 µg/ml (copaiba) and 1.84 µg/ml (control). <i>Streptococcus sanguinis</i> clinical isolated—MIC/ MBC 100 and 3.688 µg/ml (control).	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC—MIC/MBC: 50 µg/ml (copaiba) and 3.688 µg/ml (control). <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC—MIC ₅₀ : 100 µg/ml (copaiba) and 14.75 µg/ml (control). <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC —time kill: 50 µg/ml (copaiba) and 3.688 µg/ml (control). <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC —MIC/MBC: 100 µg/ml (copaiba) and 3.688 µg/ml (control). <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC —MIC ₅₀ : 200 µg/ml (copaiba) and 14.75 µg/ml (control). <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC —time kill: 100 µg/ml (copaiba) and 3.688 µg/ml (control).	? (to all analyses)
Conde et al., 2015 BR	<i>Copaifera multijuga</i>	Chlorhexidine 0.12%	<i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC —MIC (1000 mg/ml): 20 mm inhibition halo (copaiba) and (0.15 mg/ml): 12 mm inhibition halo (control). <i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC —MICA: 1.95 µg/ml (copaiba) and 4.1 mg/ml (control). <i>Streptococcus mutans</i> ATCC— MIC (1000 mg/ml): 20 mm inhibition halo (copaiba) and (0.15 mg/ml): 12 mm inhibition halo (control).	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC— MICA: 1.95 µg/ml (copaiba) and 4.1 mg/ml (control). <i>Streptococcus sanguis</i> ATCC— MIC (1000 mg/ml): 19 mm inhibition halo (copaiba) and (0.15 mg/ml): 13 mm inhibition halo (control). <i>Streptococcus sanguis</i> ATCC— MICA: 1.95 µg/ml (copaiba) and 4.1 µg/ml (control).	? (to all analyses)
Dias et al., 2015 BR	<i>Copaifera langsdorffii</i> Desfon	Chlorhexidine 0.12%	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC— MIC: Susceptibility of inhibition of 2% (copaiba) and ≤0.5% (control).	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC— MIC: Susceptibility of inhibition of ≤0.5% (copaiba and control).	? (to all analyses)

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

Author/ year/ country	Copaiba used	Control group	Bacterial species evaluated and main results for copaiba and control groups		Significant difference between copaiba and control? (<i>p</i> -value)
			<i>Streptococcus sanguis</i> ATCC— MIC: Susceptibility of inhibition of 1% and ≤0.5% (control).	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ATCC—MIC: Susceptibility of inhibition of ≤0.5% (copaiba and control).	
Pieri et al., 2010 BR	<i>Copaifera officinalis</i>	Chlorhexidine 0.12% plus 30 ml of alcohol 96%, 20 ml of propylene glycol, 20 ml of Polyethylene glycol, 20 ml de glycerin and 10 ml of distilled water. The same solution, without chlorhexidine, was used for the negative control group.	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC— inhibition halo (average): 30.5 mm (copaiba), 27.1 mm (chlorhexidine) and no bactericidal effect was found for the negative control solution.		Yes, the inhibition halos of the copaiba solution were higher than those of chlorhexidine (<i>p</i> < .05).
Pieri et al., 2012 BR	<i>Copaifera officinalis</i> (10%)	Negative control: 30 ml of alcohol 96°, 20 ml propylene glycol, 20 ml 20 ml of Polyethylene glycol, 20 ml de glycerin and 10 ml of distilled water. Positive control: Substances used in the control solution plus chlorhexidine 0.12%	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC— MIC: 0.78 µL/ml (copaiba) and 6.25 µL/ml (positive control).	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC—MBC: Inhibition of bacterial growth after 24 hr (copaiba and positive control). The negative control group did not demonstrate bactericidal activity.	? (to all analyses)
Simões et al., 2016 BR	<i>Copaifera multijuga</i>	Chlorhexidine: Gel 1% Negative control: Gel without chlorhexidine	<i>Streptococcus mutans</i> (clinical isolated)—inhibition halo (12 hr): Resistant (copaiba) and 25.286 mm (control). <i>Streptococcus mutans</i> (clinical isolated)—inhibition halo (24 hr): 9.500 mm (copaiba) and 26.000 mm (control). <i>Streptococcus mutans</i> (clinical isolated)—inhibition halo (48 hr): Resistant (copaiba) and 25.428 mm (control). <i>Streptococcus mutans</i> ATCC—inhibition halo (12 hr): 14.85 mm (copaiba) and 20.18 mm (control). <i>Streptococcus mutans</i> ATCC—inhibition halo (24 hr): 13.42 mm (copaiba) and 21.28 mm (control). <i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC—inhibition halo (12 hr): 15.86 mm (copaiba) and 13.57 mm (control). <i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC—inhibition halo (24 hr): 20.86 mm (copaiba) and 22.43 mm (control). In the negative control group, there was no inhibition of halo.		<.05 .0001 .0001 .0001 0.0001
Souza et al. (2011) BR	Copal acid coming from <i>Copaifera langsdorffii</i>	Chlorhexidine?% and DMSO 5%	<i>Streptococcus mutans</i> ATCC— MIC: 3.0 µg/ml (copaiba) and 0.9 µg/ml (chlorhexidine). <i>Streptococcus mutans</i> ATCC— MBC: 7 µg/ml (copaiba) and 4 µg/ml (chlorhexidine). <i>Streptococcus mutans</i> ATCC— time kill: All concentrations from 7, 14 to 21 µg/ml was bactericide after 24 hr of incubation and bacteriostatic after 12 hr (copaiba). The time kill for chlorhexidine was 4 µg/ml.	<i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC— MIC/MBC: 3 µg/ml (copaiba) and 0.9 µg/ml (control). <i>Streptococcus sobrinus</i> ATCC— MBC: 3 µg/ml (copaiba) and? (control). <i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC— MIC: 6.0 µg/ml (copaiba) and 3.6 µg/ml (control). <i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC— MBC: 15 µg/ml (copaiba) and? (control). DMSO: Did not inhibit the growth of microorganisms	? (to all analyses)

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

Author/ year/ country	Copaiba used	Control group	Bacterial species evaluated and main results for copaiba and control groups		Significant difference between copaiba and control? (p-value)
Souza et al. (2011) BR	Copal acid coming from <i>Copaifera langsdorffi</i>	Chlorhexidine 0.12% and DMSO 5%	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC—MIC/time kill: 3.1 µg/ml (copaiba) and 0.9 µg/ml (chlorhexidine). Copaiba was bacteriostatic the first 12 hr and bactericide in 24 hr.	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC—MIC: 200 µg/ml (copaiba) and 1.8 µg/ml (control). DMSO: Did not inhibit the growth of microorganisms.	? (to all analyses)
Vasconcelos et al., 2008 BR	<i>Copaifera multijuga</i> Hayne	Positive control: Solution 9.95 ml of culture medium and 0.05 ml of bacterial inoculum. Negative control: 10 ml of culture medium.	<i>Streptococcus sanguinis</i> ATCC and <i>Streptococcus mutans</i> ATCC—CIM: Concentrations of 118/59/29/14/7/3 µg/ml oil resin from <i>C. multijuga</i> Hayne presented antibacterial action in 24 and 48 hr. The results of control group were not reported.		?

Note. MIC = minimum inhibitory concentration, MBC = minimum bactericidal concentration, MICA = minor inhibitory concentration of adhesion, MICB₅₀ = minimum concentration of biofilm inhibition, TCDC = total concentration of cell death, DMSO = dimethyl sulfoxide or dimethyl sulfoxide, BR = Brazil, ATCC = American type culture collection, ? = not reported.

Bardaji, 2016	?	?	?	+	+	+	+	+	+	+	Yes
Bari, 2016	?	?	?	+	+	+	+	+	+	-	No
Conde, 2015	?	?	?	+	+	+	+	+	+	?	Unclear
Dias, 2015	?	?	?	+	+	+	+	+	+	-	
Moraes, 2016	?	?	?	+	+	+	+	+	+	-	
Pieri, 2010	?	?	?	+	+	+	+	+	+	-	
Pieri, 2012	?	?	?	+	+	+	+	+	+	-	
Simões, 2016	?	?	?	+	+	+	+	+	+	+	
Souza, 2011a	?	?	?	+	+	+	+	+	+	?	
Souza, 2011b	?	?	?	+	+	+	+	+	+	?	
Vasconcelos, 2008	?	?	?	+	+	+	+	+	+	-	
Was the assignment to treatment group truly random?											
Was allocation to treatment groups concealed from the allocator?											
Were those assessing the outcomes blind to the treatment allocation?											
Were control and treatment groups comparable at entry?											
Were groups treated identically other than for the named interventions?											
Were outcomes measured in the same way for all groups?											
Was appropriate statistical analysis used?											

FIGURE 2 Risk of bias of the included studies [Colour figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

The most prevalent oral diseases are dental caries and periodontal disease. Both have a common etiological factor, the accumulation of dental biofilm (Chapple, 2009; Manji & Fejerskov, 1990). For this reason, substances capable of inhibiting or reducing oral microorganisms' growth should be studied in order to generate new preventive/therapeutic possibilities. It is known that the mechanical control of biofilm is the first preventive and therapeutic strategy for these diseases (Santos, 2003); however, in the way it is carried out by the population, it presents important limitations. In this context, the use of supporting

chemical agents for mechanical control is interesting (Haas et al., 2016; Muniz et al., 2015).

Copaiba oil has been used for hundreds of years, mainly by indigenous communities, as an agent capable of performing antiinflammatory, healing, and antimicrobial activities (Dias et al., 2014; Veiga Júnior et al., 2001). Nowadays, it is still considered a balm capable of curing various diseases. In the last decades, studies using this phytotherapeutic substance showed the activity of its active principles against different pathologies, including its antibacterial

action against oral pathogens (Pacheco et al., 2006; Santos et al., 2008a; Scudeller, Rosa, & Barbosa, 2007; Veiga Junior et al., 2007; Veiga Junior & Pinto, 2002).

Isolated studies performed with oral cavity bacteria suggest the antimicrobial action of copaiba oil (Vasconcelos et al., 2008). However, in order to have an idea of the panorama of this oil-resin's action on oral cavity pathogens, a systematic review of the literature was performed.

Systematic reviews of the literature allow a more thorough notion of the published literature on a topic, evaluating the quality of this literature, so that the best quality of the available evidence can be attributed. Systematic reviews of *in vitro* studies are not the most frequent one (Jadad, Cook, & Browman, 1997; Linde & Willich, 2003). However, for the present question, *in vitro* studies are needed. This review followed very strict norms of methodological quality. First, it is emphasized that the search strategy included different databases, not only those traditionally used, but also covering bases that transcend the area of health and the English language. Because copaiba is a plant of Amazonian origin (de Albuquerque et al., 2017), there is potential to find articles published in local journals. The noninclusion of several databases would constitute a limiter. Likewise, the entire review was performed in duplicate, with a third evaluator discussing disagreements. This was done for both studies inclusion and risk of bias analysis. This evaluation was adapted according to the needs of the present study. Thus, it is suggested that the present review contains, within its proposal, most of the qualified literature on the subject.

The main endpoint used in this review was the antimicrobial action of copaiba oil on oral bacteria. It should be emphasized that both bacteria related to caries and gingivitis and others present in the supragingival biofilm were included, as well as bacteria related to periodontitis present in the subgingival biofilm (Socransky & Haffajee, 2005). It was chosen to evaluate antimicrobial action specifically because it is peculiar in the oral cavity and in its bacteria (Souza et al., 2011). Other therapeutic properties such as antiinflammatory action do not require specificities of the oral cavity and can be extracted from other experimental models common to the whole organism.

The studies included in the present review presented, in a broad sense, a high risk of bias, especially because they did not follow some contemporary research principles such as randomization, blinding, and allocation concealment. However, these characteristics are common in microbiological studies. The other characteristics, except for the statistical analysis, were adequately expressed in the included studies, which would suggest that the results obtained in the present review have the potential of generating evidence.

The results obtained by the present study point to an interesting antimicrobial effect of copaiba oil on oral bacteria (Pieri et al., 2010; Simões et al., 2016). Obviously, these results require clinical tests, especially because the simple antimicrobial action does not confer the clinical ability to function in the mouth, especially with regard to substantivity, that is, the ability of the agent to be retained in the oral cavity. Thus, clinical studies should be performed, in view of the antimicrobial potential presented.

Essential oils have been used in the oral cavity for decades, with excellent results as agents that aid mechanical control (Haas et al.,

2016). Most are used in mouthwash solutions (Kulkarni, Singh, Jalaluddin, & Mandal, 2017; Thomas, Thakur, & Mhambrey, 2015). However, coadjuvant chemical control has also been used in other forms such as dentifrices and subgingivally positioned slow-release devices (Ower, Ciantar, Newman, Wilson, & Bulman, 1995; Pessan, Al-Ibrahim, Buzalaf, & Toumba, 2008). The results of this review suggest tests for both supra and subgingival applications. There is clearly an antimicrobial effect against Gram-positive, Gram-negative bacteria, related to both caries and periodontal disease. It is also important to note that studies have been carried out regarding the safety of copaiba oil and demonstrate that it is safe for use in humans (Gonçalves et al., 2014).

The limitations related to this review lie in the fact that it focuses on laboratory studies. However, before there is clinical application, this is a fundamental step. The results cannot be transposed here for direct clinical application. However, the broad effect compared to negative controls and comparability to positive controls suggests a great potential for copaiba oil in the oral cavity. It is also interesting to note that patients' preferences and beliefs are important in generating evidence (Cantarelli et al., 2016). There is, in this sense, an appeal to be a natural substance, preferred by many.

The results obtained are challenging and thought provoking. Considering the antimicrobial action of copaiba oil presented, it is concluded that it has potential for use in the oral cavity, as a form of prevention and treatment of caries and periodontal diseases, contributing to a balance of the oral microbiota, keeping it compatible with health. Clinical tests on solutions for mouthwash, toothpaste, slow release devices, and others are recommended. The poor designed studies included in the present systematic review limit the direct application of the copaiba oil in the treatment of oral diseases. Therefore, it is suggested that better designed studies, with lower risk of bias are warranted.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was self-funded.

CONFLICT OF INTEREST

The authors report no conflict of interest related to this study.

ORCID

Francisco Wilker Mustafa Gomes Muniz  <http://orcid.org/0000-0002-3945-1752>

REFERENCES

- Arroyo, J., Almora, Y., Martínez, J., Quino, M., Bonilla, P., Flores, M., & Condorhuamán, M. (2009). Copaifera officinalis oil cytoprotector and antisecretory effects in induced gastric lesions in rats. *Anales de la Facultad de Medicina*, 70(2), 89–96. Retrieved from Journal URL: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v70n2/a02v70n2.pdf>.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.
- Bardaji, D. K., da Silva, J. J., Bianchi, T. C., de Souza Eugênio, D., de Oliveira, P. F., Leandro, L. F., ... Martins, C. H. (2016). Copaifera reticulata oleoresin: Chemical characterization and antibacterial properties against oral pathogens. *Anaerobe*, 40, 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.04.017>.
- Bari, C., Sampaio, F., Conde, N., Moura, L., Veiga Júnior, V., Barbosa, G., ... Bandeira, M. F. (2016). Amazon emulsions as cavity cleansers:

- Antibacterial activity, cytotoxicity and changes in human tooth color. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 26(4), 497–501. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.03.010>.
- Bjørndal, L., Reit, C., Bruun, G., Markvart, M., Kjaeldgaard, M., Näsman, P., ... Gluud, C. (2010). Treatment of deep caries lesions in adults: Randomized clinical trials comparing stepwise vs. direct complete excavation, and direct pulp capping vs. partial pulpotomy. *European Journal of Oral Science*, 118(3), 290–297. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2010.00731.x>.
- Cantarelli, R., Negrini, T. C., Muniz, F. W., Oballe, H. J., Arthur, R. A., & Rösing, C. K. (2016). Antimicrobial potential and gustatory perception of chlorhexidine gluconate mouthwashes with or without alcohol after a single rinse - a randomized controlled crossover clinical trial. *International Journal of Dental Hygiene*. [Epub ahead of print]. DOI: <https://doi.org/10.1111/idh.12255>.
- Cascon, V., & Gilbert, B. (2000). Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. *Phytochemistry*, 55(7), 773–778. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00284-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00284-3).
- Chapple, I. L. (2009). Periodontal diagnosis and treatment - where does the future lie? *Periodontology* 2000, 51, 9–24. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2009.00319.x>.
- Chenicheri, S., R. U., Ramachandran, R., Thomas, V., & Wood, A. (2017). Insight into oral biofilm: Primary, secondary and residual caries and Phyto-challenged solutions. *Open Dentistry Journal*, 11, 312–333. <https://doi.org/10.2174/1874210601711010312>.
- Cirmi, S., Bisignano, C., Mandalari, G., & Navarra, M. (2016). Anti-infective potential of *Citrus bergamia* Risso et Poiteau (bergamot) derivatives: A systematic review. *Phytotherapy Research*, 30(9), 1404–1411. <https://doi.org/10.1002/ptr.5646>.
- Claffey, N., Polyzois, I., & Ziaka, P. (2004). An overview of nonsurgical and surgical therapy. *Periodontology* 2000, 36, 35–44. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2004.00073.x>.
- Cobb, C. M. (2002). Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: An evidence-based perspective of scaling and root planing. *Journal of Clinical Periodontology*, 29(Suppl. 2), 6–16. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.29.s2.4.x>.
- Conde, N. C. O., Pereira, M. S. V., Bandeira, M. F. C. L., Venâncio, G. N., Oliveira, G. P., & Sampaio, F. C. (2015). In vitro antimicrobial activity of plants of the Amazon on oral biofilm micro-organisms. *Journal of Dental Science*, 30(4), 179–183. <https://doi.org/10.15448/1980-6523.2015.4.17794>.
- Costa, A. R. T., Amaral, M. F. Z. J., Martins, P. M., Paula, J. A. M., Fiuza, T. S., Tresvenzol, L. M. F., ... Bara, M. T. F. (2011). Action of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry essential oil on the hyphae of some phytopathogenic fungi. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(2), 240–245. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000200018>.
- da Silva, H. H. G., Geris, R., Rodrigues Filho, E., Rocha, C., & da Silva, I. G. (2007). Larvicidal activity of oil-resin fractions from the Brazilian medicinal plant *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae/Caesalpinioideae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40(3), 264–267. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822007000300002>.
- da Silva Moraes, T., Leandro, L. F., de O Silva, L., Santiago, M. B., Souza, A. B., & Furtado, R. A. (2016). In vitro evaluation of *Copaifera oblongifolia* oleoresin against bacteria causing oral infections and assessment of its cytotoxic potential. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17(10), 894–904. <https://doi.org/10.2174/1389201017666160415155359>.
- de Albuquerque, K. C., da Veiga, A. D., Silva, J. V., Brigido, H. P., Ferreira, E. P., Costa, E. V., ... Dolabela, M. F. (2017). Brazilian Amazon traditional medicine and the treatment of difficult to heal Leishmaniasis wounds with *Copaifera*. *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*, 2017, 8350320. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/8350320>.
- Dias, D. S., Fontes, L. B., Crotti, A. E., Aarestrup, B. J., Aarestrup, F. M., da Silva Filho, A. A., & Corrêa, J. O. (2014). Copaiba oil suppresses inflammatory cytokines in splenocytes of C57Bl/6 mice induced with experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *Molecules*, 19(8), 12814–12826. <https://doi.org/10.3390/molecules190812814>.
- Dias, F. G. G., Casemiro, L. A., Martins, C. H. G., Dias, L. G. G., Pereira, L. F., Nishimura, L. T., ... Honsho, C. S. (2015). Endodontics pastes formulated with copaiba oil: Action on oral microbiota and dentin bridge formation in dogs. *Ciência Rural*, 45(6), 1073–1078. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141284>.
- Francisco, S. G. (2005). Use of copaiba oil resin (*Copaifera officinalis* L) in gynecological inflammation. *Femina*, 33(2), 89–93.
- Ghuman, S., Ncube, B., Finnie, J. F., McGaw, L. J., Cooposamy, R. M., & Van Staden, J. (2016). Antimicrobial activity, phenolic content, and cytotoxicity of medicinal plant extracts used for treating dermatological diseases and wound healing in KwaZulu-Natal, South Africa. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 320. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00320>.
- Gonçalves, E. S., Silva, J. R., Gomes, C. L., Nery, M. B. L., Navarro, D. M. A. F., Santos, G. K. N., ... Wanderley, A. G. (2014). Effects of the oral treatment with *Copaifera multijuga* oil on reproductive performance of male Wistar rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(3), 355–362. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.07.014>.
- Graziani, F., Karapetsa, D., Alonso, B., & Herrera, D. (2017). Nonsurgical and surgical treatment of periodontitis: How many options for one disease? *Periodontology* 2000, 75, 152–188. <https://doi.org/10.1111/prd.12201>.
- Haas, A. N., Wagner, T. P., Muniz, F. W., Fiorini, T., Cavagni, J., & Celeste, R. K. (2016). Essential oils-containing mouthwashes for gingivitis and plaque: Meta-analyses and meta-regression. *Journal of Dentistry*, 55, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2016.09.001>.
- Islam, M. T., da Mata, A. M., de Aguiar, R. P., Paz, M. F., de Alencar, M. V., Ferreira, P. M., & de Carvalho Melo-Cavalcante, A. A. (2016). Therapeutic potential of essential oils focusing on diterpenes. *Phytotherapy Research*, 30(9), 1420–1444. <https://doi.org/10.1002/ptr.5652>.
- Jadad, A. R., Cook, D. J., & Browman, G. P. (1997). A guide to interpreting discordant systematic reviews. *Canadian Medical Association Journal*, 156(10), 1411–1416 Retrieved from Journal URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1227410>.
- Joanna Briggs Institute (2014). Joanna Briggs Institute reviewers' manual: 2014 edition. Retrieved from <https://joannabriggs.org/assets/docs/sumari/ReviewersManual-2014.pdf>. Accessed on April 20th, 2017.
- Kulkarni, P., Singh, D. K., Jalaluddin, M., & Mandal, A. (2017). Comparative evaluation of antiplaque efficacy between essential oils with alcohol-based and chlorhexidine with nonalcohol-based mouthrinses. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 7(suppl 1), S36–S41. https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_131_17.
- Leandro, L. M., Vargas, F. d. S., Barbosa, P. C., Neves, J. K., da Silva, J. A., & da Veiga-Junior, V. F. (2012). Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. *Molecules*, 17(4), 3866–3889. <https://doi.org/10.3390/molecules17043866>.
- Linde, K., & Willich, S. N. (2003). How objective are systematic reviews? Differences between reviews on complementary medicine. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 96(1), 17–22 Retrieved from Journal URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC539366>.
- Mäkinen, K. K., & Philosophy, L. (1972). The role of sucrose and other sugars in the development of dental caries; a review. *International Dental Journal*, 22(3), 363–386.
- Manji, F., & Fejerskov, O. (1990). Dental caries in developing countries in relation to the appropriate use of fluoride. *Journal of Dental Research*, 69, (Spec No):733-741. DOI: <https://doi.org/10.1177/002203459006905143>.
- Matsingou, C., Hatziantoniou, S., Georgopoulos, A., Dimas, K., Terzis, A., & Demetoz, C. (2005). Labdane-type diterpenes: Thermal effects on phospholipid bilayers, incorporation into liposomes and biological activity. *Chemistry and Physics of Lipids*, 138(1–2), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2005.07.006>.
- Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Petticrew, M., ... Stewart, L. A. (2015). Preferred reporting items for systematic review

- and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Review*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/2046-4053-4-1>.
- Muniz, F. W., Sena, K. S., de Oliveira, C. C., Verissimo, D. M., Carvalho, R. S., & Martins, R. S. (2015). Efficacy of dental floss impregnated with chlorhexidine on reduction of supragingival biofilm: A randomized controlled trial. *International Journal of Dental Hygiene*, 13(2), 117–124. <https://doi.org/10.1111/idh.12112>.
- Nazar Majeed, Z., Philip, K., Alabsi, A. M., Pushparajan, S., & Swaminathan, D. (2016). Identification of gingival crevicular fluid sampling, analytical methods, and oral biomarkers for the diagnosis and monitoring of periodontal diseases: A systematic review. *Disease Markers*, 2016, 1804727. DOI:<https://doi.org/10.1155/2016/1804727>.
- Ower, P. C., Ciantar, M., Newman, H. N., Wilson, M., & Bulman, J. S. (1995). The effects on chronic periodontitis of a subgingivally-placed redox agent in a slow release device. *Journal of Clinical Periodontology*, 22(6), 494–500. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.1995.tb00184.x>.
- Pacheco, T., Barata, L., & Duarte, M. (2006). Antimicrobial activity of copaiba (*Copaifera* spp) balsams. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 8, 123–124.
- Paiva, L. A., Gurgel, L. A., Campos, A. R., Silveira, E. R., & Rao, V. S. (2004). Attenuation of ischemia/reperfusion-induced intestinal injury by oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. *Life Science*, 75(16), 1979–1987. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.05.011>.
- Palombo, E. (2011). Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: Potential application in the prevention and treatment of oral diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 680354. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep067>.
- Pessan, J. P., Al-Ibrahim, N. S., Buzalaf, M. A., & Toumba, K. J. (2008). Slow-release fluoride devices: A literature review. *Journal of Applied Oral Science*, 16(4), 238–246. <https://doi.org/10.1590/S1678-7752008000400003>.
- Pieri, F., Mussi, M., Fiorini, J., & Schneedorf, J. (2010). Clinical and microbiological effects of copaiba oil (*Copaifera officinalis*) on dental plaque forming bacteria in dogs. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62(3), 578–585. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352010000300012>.
- Pieri, F. A., Mussi, M. C., Fiorini, J. E., Moreira, M. A., & Schneedorf, J. M. (2012). Bacteriostatic effect of copaiba oil (*Copaifera officinalis*) against *Streptococcus mutans*. *Brazilian Dental Journal*, 23(1), 36–38. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402012000100006>.
- Rigamonte-Azevedo, O. C., Wadt, P. G. S., Wadt, L. H. O. (2004). Copaiba: ecologia e produção de óleo-resina. Rio Branco: Embrapa Acre. 28 p. il. color. (Embrapa Acre. Documentos, 91). Biblioteca: Embrapa Acre.
- Santos, A. (2003). Evidence-based control of plaque and gingivitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(Suppl 5), S13–S16. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051X.30.s5.5.x>.
- Santos, A. O., Ueda-Nakamura, T., Dias Filho, B. P., Veiga Júnior, V. F., Pinto, A. C., & Nakamura, C. V. (2008a). Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103(3), 277–281. <https://doi.org/10.1590/S0074-027620080005000015>.
- Santos, A. O., Ueda-Nakamura, T., Dias Filho, B. P., Veiga Júnior, V. F., Pinto, A. C., & Nakamura, C. V. (2008b). Effect of Brazilian copaiba oils on *Leishmania amazonensis*. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(2), 204–208. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.08.007>.
- Scudeller, V., Rosa, A., & Barbosa, K. (2007). Viabilidade Econômica da Extração do Óleo-Resina de *Copaifera multijuga* Hayne na Amazônia Central. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(Suppl 1), 753–755.
- Serrano, J., Escribano, M., Roldán, S., Martín, C., & Herrera, D. (2015). Efficacy of adjunctive anti-plaque chemical agents in managing gingivitis: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(Suppl 16), S106–S138. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12331>.
- Sharifi-Rad, J., Salehi, B., Varoni, E. M., Sharopov, F., Yousaf, Z., & Ayatollahi, S. A. ... Iriti, M. (2017). Plants of the melaleuca genus as antimicrobial agents: From farm to pharmacy. *Phytotherapy Research*, 31(10), 1475–1494. <https://doi.org/10.1002/ptr.5880>.
- Simões, C. A., Conde, N. C., Venâncio, G. N., Milério, P. S., Bandeira, M. F., & da Veiga Júnior, V. F. (2016). Antibacterial activity of copaiba oil gel on dental biofilm. *Open Dentistry Journal*, 10, 188–195. <https://doi.org/10.2174/1874210601610010188>.
- Singhal, D. K., Acharya, S., & Thakur, A. S. (2016). Microbiological analysis after complete or partial removal of carious dentin using two different techniques in primary teeth: A randomized clinical trial. *Dental Research Journal*, 13(1), 30–37. <https://doi.org/10.4103/1735-3327.174695>.
- Siqui, A., Sampaio, A., Sousa, M., Henriques, M., & Ramos, M. (2000). Essential oil - antiinflammatory potential. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, 16, 38–43.
- Smith-Hall, C., Larsen, H. O., & Pouliot, M. (2012). People, plants and health: A conceptual framework for assessing changes in medicinal plant consumption. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 8, 43. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-8-43>.
- Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000*, 38, 135–187. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2005.00107.x>.
- Souza, A. B., de Souza, M. G., Moreira, M. A., Moreira, M. R., Furtado, N. A. J. C., Martins, C. H. G., ... Veneziani, R. C. S. (2011). Antimicrobial evaluation of diterpenes from *Copaifera langsdorffii* oleoresin against periodontal anaerobic bacteria. *Molecules*, 16(11), 9611–9619. <https://doi.org/10.3390/molecules16119611>.
- Souza, A. B., Martins, C. H., Souza, M. G., Furtado, N. A. J. C., Heleno, V. C. G., Sousa, J. P. B., ... Ambrósio, S. R. (2011). Antimicrobial activity of terpenoids from *Copaifera langsdorffii* Desf. Against cariogenic bacteria. *Phytotherapy Research*, 25(2), 215–220. <https://doi.org/10.1002/ptr.3244>.
- Souza-Júnior, O. G., Damos, S. H. B., & Lamarão, L. G. (2000). Critical review about the medical use of copaiba oil. *Revista Paraense de Medicina*, 14(1), 71–76.
- Thomas, A., Thakur, S., & Mhambrey, S. (2015). Comparison of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine, sodium fluoride, fluoride with essential oils, alum, green tea, and garlic with lime mouth rinses on cariogenic microbes. *Journal of International Society & Preventive Community Dentistry*, 5(4), 302–308. <https://doi.org/10.4103/2231-0762.161759>.
- Urzúa, A., Rezende, M. C., Mascayano, C., & Vasquez, L. (2008). A structure-activity study of antibacterial diterpenoids. *Molecules*, 13(4), 882–891. <https://doi.org/10.3390/molecules13040822>.
- Vasconcelos, K. R. F., Veiga Júnior, V. F., Rocha, W. C., & Bandeira, M. F. C. L. (2008). Avaliação in vitro da atividade antibacteriana de um cimento odontológico à base de óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne In vitro assessment of antibacterial activity of a dental cement constituted of a *Copaifera multijuga* Hayne oil-resin. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(suppl 0), 733–738. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000500017>.
- Veiga Junior, V., & Pinto, A. (2002). O GÊNERO *Copaifera* L. *Química Nova*, 25(2), 273–286. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000200016>.
- Veiga Júnior, V. F., Patitucci, M. L., & Pinto, A. C. (1997). Authenticity control of commercial copaiba oils by high resolution gas chromatography. *Química Nova*, 20(6), 612–615. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421997000600007>.
- Veiga Júnior, V. F., Pinto, A. C., & Maciel, M. A. M. (2005). Plantas medicinais: Cura segura? *Química Nova*, 28(3), 519–528. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300026>.
- Veiga Junior, V. F., Rosas, E. C., Carvalho, M. V., Henriques, M. G., & Pinto, A. C. (2007). Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne - a comparative study. *Journal of Ethnopharmacology*, 112(2), 248–254. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.03.005>.
- Veiga Júnior, V. F., Zunino, L., Calixto, J. B., Patitucci, M. L., & Pinto, A. C. (2001). Phytochemical and antioedematogenic studies of commercial

- copaiba oils available in Brazil. *Phytotherapy Research*, 15(6), 476–480. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421997000600007>.
- Wang, Y., Li, J., Sun, W., Li, H., Cannon, R. D., & Mei, L. (2017). Effect of non-fluoride agents on the prevention of dental caries in primary dentition: A systematic review. *PLoS One*, 12(8), e0182221. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182221>.
- Wolff, D., Frese, C., Maier-Kraus, T., Krueger, T., & Wolff, B. (2013). Bacterial biofilm composition in caries and caries-free subjects. *Caries Research*, 47(1), 69–77. <https://doi.org/10.1159/000344022>.
- Ziech, R. E., Farias, L. D., Balzan, C., Ziech, M. F., Heinzmann, B. M., Lameira, O. A., & Vargas, A. C. (2013). Atividade antimicrobiana do oleorresina de copaíba (*Copaifera reticulata*) frente a *Staphylococcus coagulase* positiva isolados de casos de otite em cães. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(7), 909–913. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013000700011>.

How to cite this article: Diefenbach AL, Muniz FWMG, Oballe HJR, Rösing CK. Antimicrobial activity of copaiba oil (*Copaifera* spp.) on oral pathogens: Systematic review. *Phytotherapy Research*. 2017;1–11. <https://doi.org/10.1002/ptr.5992>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente tese objetivou realizar a descrição da ação antimicrobiana do óleo de copaíba frente a bactérias orais.

No **Capítulo 1** apresentou-se através de revisão de literatura Diefenbach e Rösing (2018) onde uma busca realizada nas bases de dados disponíveis, especialmente no Pubmed, no intuito de construir um panorama da literatura disponível. Nessa etapa, o foco de interesse residiu em contextualizar sobre o uso de fitoterápicos e avaliar estudos que utilizaram o óleo de copaíba na odontologia. Os resultados desse levantamento mostraram que o óleo de copaíba poderia ser uma alternativa como um agente adicional a ser usado em colutórios ou até mesmo dentifrícios. Assim, construiu-se um panorama da literatura disponível para contextualizar as propostas seguintes, como uma revisão sistemática e pesquisa clínica envolvendo óleo de copaíba frente a bactérias orais.

No **Capítulo 2** apresentou-se uma revisão sistemática da literatura Diefenbach *et al.*, (2017), que foi conduzida com o objetivo obter informações mais detalhadas quanto uma real ação antimicrobiana no uso do óleo de copaíba frente a patógenos orais quando comparado a outros fitoterápicos ou a placebo. Os resultados mostraram limitações metodológicas nos estudos, como a não apresentação de dados claros quanto à aleatorização, sigilo de alocação e cegamento dos avaliadores e a análise estatística não fica clara em alguns deles. Salienta-se que todos os estudos publicados em relação a proposta temática são *in vitro*. As demais características foram adequadamente consideradas, o que sugeriria que os resultados obtidos geram novas proposições de estudos. Observou-se então a necessidade da realização de estudo que empregasse métodos que permitissem avaliar através de testes clínicos a possível ação do óleo de

copaíba frente a bactérias da cavidade oral, como forma de prevenção e tratamento da cárie e doença periodontal.

REFERÊNCIAS DA TESE

- Axelsson, P. (1981) Concept And Practice Of Plaque-Control. *Pediatric Dentistry*, V. 3, N. Spec, P. 101-112.
- Arweiler, N. B., Ausschill, T. M. and Sculean, A. (2018), Patient self-care of periodontal pocket infections. *Periodontol 2000*, 76: 164-179. doi:10.1111/prd.12152
- Breyers, J. D., & Ratner, J. P. (2004). Bioinspired implant materials befuddle bacteria. *ASM News*, 70, 232–237.
- Cury, J.A. Controle Químico Da Placa Dental. (1997) In: Kriger, L. (Coord.). *Aboprev: Promoção De Saúde Bucal*. São Paulo: Artes Médicas, Cap.7, P.129-40.
- Bernimoulin, J. P. (2003). "Recent concepts in plaque formation." *J Clin Periodontol* 30 Suppl 5: 7-9.
- D'Costa, V. M., McGrann, K. M., Hughes, D. W. & Wright, G. D. (2006) Sampling the antibiotic resistome. *Science* 311, 374–377 (2006)
- Diefenbach, A.L., Muniz, F.W.M.G., Oballe, H.J.R., Rösing, C.K.(2017): Antimicrobial Activity of Copaiba Oil (*Copaifera Ssp.*) On Oral Pathogens: Systematic Review. *Phytotherapy Research*: ;1–11
- Drumond, M. R. S.; Castro, R. D. D.; Almeida, R. V. D. D.; Pereira, M. D. S. V. *Et al.*, (2004). Estudo Comparativo *In vitro* Da Atividade Antibacteriana De / Produtos Fitoterápicos Sobre Bactérias Cariogênicas. *Pesquisa Brasileira Em Odontopediatria E Clínica Integrada*, V. 4, N. 1, P. 33-38, jan.-abr.
- Gayoso, C., E. Lima, E. Souza, V. Trajano, F. Pereira And I. Lima (2004). "Ação Inibitória Do Óleo Essencial De *Cinnamomum Zeylanicum* Blume, A-Pineno E B-Pineno Sobre Fungos Isolados De Onicomicoses." *Jornal Brasileiro De Fitomedicamentos* 1(1-4): 25-29.
- dos Santos, E. C. G., Donnici, C. L., da Silva Camargos, E. R., de Rezende, A. A., de Aguiar Andrade, E. H., Soares, L. A. L., ... & das Graças Almeida, M. (2013). Effects of *Copaifera duckei* Dwyer oleoresin on the cell wall and cell division of *Bacillus cereus*. *Journal of medical Microbiology*, 62(7), 1032-1037.
- Grunsven, M. F. V., & Cardoso, E. B. T. (1995). Atendimento Odontológico Em Crianças Especiais. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent*, 49(5), 364-70.
- Ito, T., Maeda, T., & Senpuku, H. (2012). Roles of Salivary Components in *Streptococcus mutans* Colonization in a New Animal Model Using NOD/SCID.e2f1-/- Mice. *PLoS ONE*, 7(2), 1–9.

Juiz, P. J. L., Alves, R. J., & Barros, T. F. (2010). Uso De Produtos Naturais Como Coadjuvante No Tratamento Da Doença Periodontal. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(1),134-139. <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-95X2010000100026>

Ministério Da Saúde. Política E Programa Nacional De Plantas Mediciniais E Fitoterápicos. Brasília: Ministério Da Saúde, 2016. 190 P. Ibsen 978-85-334-2399-Roberts Mc 2002. Antibiotic Toxicity, Interactions And Resistance Development. *Periodontol* 2000 28: 280-297.

Oppermann, Rui Vicente, Haas, Alex Nogueira, Villoria, German Eduardo Miguel, Primo, Laura Guimarães, Serra-Negra, Júnia M., Ferreira, Efigênia Ferreira e, & Pannuti, Claudio Mendes. (2010). Proposal for the teaching of the chemical control of supragingival biofilm. *Brazilian Oral Research*, 24(Suppl. 1), 33-36. <https://dx.doi.org/10.1590/S1806-83242010000500006>

Pedrazzi, V., Souza, S., Oliveira, R., Cimões, R., & Gusmão, E. (2009). Métodos Mecânicos Para O Controle Do Biofilme Dentário Supragengival. *Periodontia*, Rio De Janeiro, 19(3), 26-33.

Rigamonte Azevedo, O.C., Wadt, P.G; Wadt, L.H. (2004) Copaíba: ecologia e produção de óleo-resina. Rio Branco: EMBRAPA, MAPA, 28p.

Rösing, C.K., Diefenbach, A.L. Fitoterápicos brasileiros:Há espaço para uso na odontologia? O exemplo do óleo de copaíba (2018). *Int.Journal of Brazilian Dentistry*, v.14, n.2, p.108-110.abr/jun.

Ros-Llor, I.; Lopez-Jornet, P. Cytogenetic (2014). Analysis Of Oral Mucosa Cells, Induced By Chlorhexidine, Essential Oils In Ethanolic Solution And Triclosan Mouthwashes. *Environ Res*, New York, V. 132, P. 140-145.

Saleem, H. G. M.; Seers, C. A.; Sabri, A. N.; Reynolds, E. C. (2016). Dental Plaque Bacteria With Reduced Susceptibility To Chlorhexidine Are Multidrug Resistant. *Bmc Microbiology*, V. 16, N. 1, P. 214. Disponível Em: <[Http://Dx.Doi.Org/10.1186/S12866-016-0833-1](http://Dx.Doi.Org/10.1186/S12866-016-0833-1)>.

Santos, A. O. D.; Ueda-Nakamura, T.; Dias Filho, B. P.; Veiga Junior, V. F. *et al.*, (2008) Antimicrobial Activity Of Brazilian Copaiba Oils Obtained From Different Species Of The *Copaifera* Genus. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, V. 103, P. 277-281, Apr, 2008. Disponível Em: <[Http://Www.Scielo.Br/SciELO.Php?Script=Sci_Arttext&Pid=S0074-02762008000300009&Nrm=Iso](http://Www.Scielo.Br/SciELO.Php?Script=Sci_Arttext&Pid=S0074-02762008000300009&Nrm=Iso)>

Simões C.C.G., Conde NCO, Venâncio GN, Milério, PS.L.L., Bandeira M F.C.L., Veiga Júnio VF (2016) Antibacterial Activity Of Copaiba Oil Gel On Dental Biofilm. *The Open Dentistry Journal*, 2016, 10, (Suppl-1, M6) 188-195.

Sommer, M. O. A., Dantas, G. & Church, G. M. (2009). Functional characterization of the antibiotic resistance reservoir in the human microflora. *Science* 325, 1128–1131.

Stoeken, J. E., Paraskevas, S. And Van Der Weijden, G. A. (2007), The Long-Term Effect Of A Mouthrinse Containing Essential Oils On Dental Plaque And Gingivitis: A Systematic Review. *Journal Of Periodontology*, 78: 1218-1228. Doi:10.1902/Jop.2007.060269.

Takahashi, N., Nyvad, B. (2011). The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives, *J. Dent. Res.* 90: 294–303.

Teles, Ricardo Palmier, & Teles, Flavia Rocha Fonseca. (2009). Antimicrobial agents used in the control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? *Brazilian Oral Research*, 23(Suppl. 1), 39-48. <https://dx.doi.org/10.1590/S1806-83242009000500007>

Urzúa, A., Rezende, M. C., Mascayano, C., & Vásquez, L. (2008). A structure-activity study of antibacterial diterpenoids. *Molecules*, 13(4), 882-891.

Valdevite, L. M. Estudo do efeito '*In vitro*' de Extrato das folhas e do Óleo-Resina de Copaíba sobre fatores de Virulência De 'Streptococcus Mutans', relacionados à Cárie Dental (2007). Dissertação (Mestrado). Ribeirão Preto: Faculdade De Ciências Farmacêuticas De Ribeirão Preto, Universidade De São Paulo.

Van Leeuwen, M., Slot, D. And Van Der Weijden, G. (2011), Essential oils compared to Chlorhexidine with respect to plaque and parameters of gingival inflammation: A Systematic Review. *Journal Of Periodontology*, 82: 174-194. Doi:10.1902/Jop.2010.100266.

Vasconcelos, K. R. F.; Veiga Junior, V. F.; Rocha, W. C.; Bandeira, M. F. C. L. Avaliação *In vitro* Da Atividade Antibacteriana De Um Cimento Odontológico À Base De Óleo-Resina De *Copaifera Multijuga* Hayne (2008). *Revista Brasileira De Farmacognosia*, V. 18, N. Supl, P. 733-738.

Zanatta, F. B., Antoniazzi, R. P. and Rösing, C. K. (2007), The Effect of 0.12% Chlorhexidine Gluconate Rinsing on Previously Plaque-Free and Plaque-Covered Surfaces: A Randomized, Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 78: 2127-2134. doi:[10.1902/jop.2007.070090](https://doi.org/10.1902/jop.2007.070090)

Zaura E., Brandt B.W., Teixeira de Mattos M.J., *et al.*, (2015) Same Exposure but Two Radically Different Responses to Antibiotics: Resilience of the Salivary Microbiome versus Long-Term Microbial Shifts in Feces. *mBio* 6: e01693-01615. doi: 10.1128/mBio.01693-15

ANEXO 1 – IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE/ PERCEPÇÃO GUSTATIVA

Participante nº _____

Idade _____

Data Nasc. _____

Gênero _____

Data da Coleta 1: ___/___/_____

Como você classificaria a sensação do enxaguatório que você utilizou hoje, em relação ao gosto?

amargo azedo salgado doce

Data da coleta 2: ___/___/_____

Como você classificaria a sensação do enxaguatório que você utilizou hoje, em relação ao gosto?

amargo azedo salgado doce

Data da Coleta 3: ___/___/_____

Como você classificaria a sensação do enxaguatório que você utilizou hoje, em relação ao gosto?

amargo azedo salgado doce

Data da Coleta 4: ___/___/_____

Como você classificaria a sensação do enxaguatório que você utilizou hoje, em relação ao gosto?

amargo azedo salgado doce

ANEXO 2— IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE/ ESCALA HEDÔNICA

Data: .../.../...

Participante: nº _____

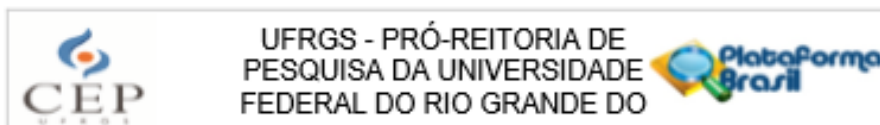
Por favor, avalie o colutório que acabou de bochechar utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto. Marque a posição da escala que melhor reflita sua opinião.

Código da amostra: _____

- Gostei extremamente
- Gostei muito
- Gostei moderadamente
- Gostei ligeiramente
- Indiferente
- Desgostei ligeiramente
- Desgostei moderadamente
- Desgostei muito
- Desgostei extremamente

Comentários: _____

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito do óleo de Copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) usado como enxagatário bucal.

Pesquisador: CASSIANO KUCHENBECKER ROSING

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 70393717.6.0000.5347

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.247.386

Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto desenvolvido por pesquisadores do programa de pós-graduação em odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O mesmo contempla em sua equipe de trabalho professores produtivos, além de estudantes de doutorado do mesmo programa. Ressalte-se que a equipe executora tem ampla experiência na execução deste tipo de delineamento experimental e o pesquisador responsável é bolsista de produtividade CNPq. O projeto trata de tema de interesse da comunidade científica além de representar uma oportunidade de desenvolvimento de novos produtos considerando a riqueza e disponibilidade dos fitoterápicos em solo brasileiro. Considerando o produto a ser testado (Copaiba), a mesma é uma planta medicinal amplamente utilizada pelos povos da Amazônia por produzir um óleo-resina que é produto da desintoxicação do organismo vegetal e funciona como defesa da própria principalmente contra bactérias. A sua utilização como um produto de higiene bucal se justifica principalmente devido a este possível efeito antimicrobiano, o que poderia sobremaneira contribuir para o controle dos microorganismos relacionados às doenças periodontais.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário

O objetivo desse estudo é avaliar a percepção gustativa e o potencial antimicrobiano frente às

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Fátima
UF: RS Município: PORTO ALEGRE CEP: 90.040-060
Telefone: (51)3308-3738 Fax: (51)3308-4065 E-mail: etica@propesq.ufrgs.br



Continuação da Parecer: 2.247.265

supragengival.

Ressalte-se que o projeto de pesquisa não envolve a participação de grupos de vulneráveis e o ressarcimento para as despesas de transporte.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Todos os termos de apresentação obrigatória encontram-se devidamente anexados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória encontram-se devidamente anexados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram atendidas e os documentos estão totalmente uniformizados.

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_P RJETO_951549.pdf	22/08/2017 17:39:52		Aceito
Outros	Carta_Resposta.docx	22/08/2017 17:39:23	CASSIANO KUCHENBECKER ROSING	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_copaiba_final.docx	22/08/2017 17:38:05	CASSIANO KUCHENBECKER ROSING	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	28/06/2017 14:38:10	CASSIANO KUCHENBECKER ROSING	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	27/06/2017 10:35:26	CASSIANO KUCHENBECKER ROSING	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.pdf	27/06/2017 10:33:28	CASSIANO KUCHENBECKER ROSING	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Assinatura_LABIM.pdf	27/06/2017 10:31:40	CASSIANO KUCHENBECKER ROSING	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	27/06/2017 10:30:35	CASSIANO KUCHENBECKER	Aceito

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farroupilha **Cep:** 90.040-060
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 **Fax:** (51)3308-4065 **E-mail:** etica@propesq.ufrgs.br



UFRGS - PRÓ-REITORIA DE
PESQUISA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO RIO GRANDE DO



Continuação do Parecer: 2.247.366

Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	27/06/2017 10:30:35	ROSING	Aceito
------------	----------------	------------------------	--------	--------

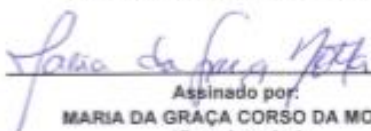
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 30 de Agosto de 2017


Assinado por:
MARIA DA GRAÇA CORSO DA MOTTA
(Coordenador)

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Ferropolis Cep: 90.040-060
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3308-3738 Fax: (51)3308-4065 E-mail: etica@propeq.ufrgs.br

Página 04 de 04