

Atividade antibacteriana de tinturas à base de plantas sobre microrganismos do biofilme dental

Antibacterial activity of plant-based tinctures on dental biofilm's microorganisms

Andreia Medeiros Rodrigues Cardoso¹, Yuri Wanderley Cavalcanti¹, Leopoldina Fátima de Almeida², Wilton Wilney Nascimento Padilha³

1. Aluno de Graduação em Odontologia Universidade Federal da Paraíba, DCOS - UFPB

2. Aluna do Programa de Pós-Graduação em Odontologia (Odontologia Preventiva Infantil) Universidade Federal da Paraíba, DCOS - UFPB

3. Professor Doutor Titular de Clínica Integrada, Departamento de Clínica e Odontologia Social Universidade Federal da Paraíba

DESCRIPTORES:

Testes de Sensibilidade Microbiana; Preparações de Plantas; Biofilme dentário Placa dentária.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a atividade antibacteriana das Tinturas (T) de *Salvia officinalis* - T1, *Malva sylvestris* - T2 e do *Anacardium occidentale* - T3 sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) e *Streptococcus oralis* (ATCC 10557). **Material e Método:** Determinou-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM) das tinturas pela técnica de microdiluição. Utilizaram-se microplacas com 96 poços. Em cada poço, foram inseridos 100µL de caldo Brain Heart Infusion duplamente concentrado, 100µL das tinturas em concentrações que variaram de 100 a 0,78mg/mL e 10µL de inóculo bacteriano (108 UFC/mL). As microplacas foram incubadas a 37°C, por 24 horas. A CIM correspondeu à última diluição na qual se verificou ausência de precipitado bacteriano ou turvação do meio de cultura. Os testes foram realizados em triplicata, a Clorexidina 0,12% (1,2mg/mL) serviu de controle, e os dados foram analisados descritivamente. **Resultados:** Sobre *S. mutans* e *S. oralis*, a CIM para cada tintura foi, respectivamente, 3,12 e 0,78 (T1); 6,25 e 3,12 (T2); e 1,56 e 0,78 (T3). Clorexidina 0,12% apresentou atividade satisfatória frente às cepas testadas. **Conclusão:** As tinturas avaliadas apresentaram atividade antibacteriana sobre as cepas de *Streptococcus* spp ensaiadas.

Keywords:

Microbial Sensitivity Tests; Plant Preparations; Dental Plaque.

ABSTRACT

Objective: The aim was to evaluate the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of tinctures from *Salvia* - T1 (*Salvia officinalis*), *Malva* - T2 (*Malva sylvestris*) and *Purple Cashew* - T3 (*Anacardium occidentale*) against *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) and *Streptococcus oralis* (ATCC 10557). **Material and Method:** The MIC of tinctures was determined through the microdilution technique using 96-wells microplates. To each well were placed 100µL of BHI doubly concentrated, 100µL of the tinctures in concentrations that ranged from 100 to 0.78 mg/mL and 10 µL of microbial inoculum (1.5x10⁸ UFC/mL). The microplates were incubated at 37°C for 24 hours. The MIC corresponded to the last dilution in which there was no presence of bacterial precipitate or turbidity in the culture medium. Chlorhexidine at 0,12% (1,2mg/mL) was used as control. **Results:** For *S. mutans* and *S. oralis* the MIC for each tinture were respectively 3.12 and 0.78 (T1), 6.25 and 3.12 (T2), 1.56 and 0.78 (T3). Chlorhexidine 0.12% presented satisfactory activity against the studied strains. **Conclusion:** The analyzed tinctures presented antibacterial activity against the evaluated strains of *Streptococcus*.

211

Endereço para correspondência

Andreia Medeiros Rodrigues Cardoso
Rua Cordelia Veloso Frade, 70 – Jardim Cidade Universitária
João Pessoa/PB CEP: 58052-430
Tel.: (83)9907019
Email: andreiamedeiros29@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Grande parte das doenças que acometem a cavidade bucal é de origem infecciosa. A cárie dentária é uma doença multifatorial, caracterizada pela perda mineral da estrutura dental, que está fundamentada em três fatores: hospedeiro, dieta e microrganismos, atuando sobre estes o tempo¹. Os *Streptococcus*, principalmente, do grupo *mutans* são considerados seus principais agentes etiológicos².

Os *Streptococcus mutans*, por suas propriedades acidogênica e acidúrica, favorecem a formação de grande quantidade de biofilme dentário e polissacarídeos intra-

celulares, que permitem a produção de ácido, mesmo na ausência de fontes exógenas de sacarose². O *Streptococcus oralis*, além do *Streptococcus mitis* e *Streptococcus sanguis*, tem função essencial no início dos depósitos microbianos nas superfícies do esmalte dentário, sendo estes os primeiros colonizadores na superfície do esmalte, atuando como receptores dos microrganismos que se acumulam para formar o biofilme dentário³.

A remoção do biofilme dentário é um fator importante na prevenção da cárie dentária e da doença periodontal, sendo o método mecânico de higiene mais aceito⁴. Castro⁵ acrescenta que, diante das dificuldades de manter os indivíduos motivados para realizar uma adequada limpeza

da cavidade bucal, é válido e necessário associar métodos químicos aos procedimentos mecânicos para o controle da microbiota.

Segundo Pereira et al.⁶, os extratos de plantas utilizados na prática odontológica mostraram resultados efetivos sobre o controle da formação do biofilme. Este estudo mostrou que estas podem ter efeitos bacteriostático, bactericida e/ou fungicida, com possibilidade de interferir na síntese de polissacarídeos (dextrano), agindo nas enzimas que produzem essas substâncias ou sobre a estrutura dentária.

Na busca por novos fitoterápicos, destaca-se a *Salvia officinalis* (Salvia), uma gramínea pertencente à família das Lamiaceae, conhecida por suas propriedades antisséptica, cicatrizante, bactericida e antioxidante⁷. Outra planta que desperta interesse é a *Malva sylvestris* (Malva), planta da família Malvaceae, muito usada pela medicina popular na América Latina por suas propriedades anti-inflamatórias e antissépticas⁸.

O *Anacardium occidentale* L. (Cajueiro roxo) é uma planta nativa do nordeste brasileiro, sendo muito encontrado nos tabuleiros sedimentares litorâneos. Na odontologia, é utilizado em afecções, como aftas, estomatite, inflamações bucais e úlceras por próteses mal adaptadas⁹.

Investigações etnobotânicas identificaram o uso popular de *Salvia officinalis*, *Anacardium occidentale* e *Malva sylvestris*^{9,10}, o que justifica a realização do presente estudo. Atividades antimicrobianas de extratos naturais de *Salvia officinalis* (Salvia), *Anacardium occidentale* (Cajueiro Roxo) e *Malva sylvestris* (Malva) foram descritas por vários estudos^{4,8,7,6,11,12}.

Entretanto, os relatos da literatura ainda são escassos quanto à concentração inibitória desses produtos, de modo que se verifica a necessidade de aprofundar as investigações sobre a atividade antibacteriana, com o objetivo de justificar e validar o uso clínico de produtos naturais. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar in vitro a atividade antibacteriana das tinturas de *Salvia officinalis* (Salvia), *Malva sylvestris* (Malva) e do *Anacardium occidentale* (Cajueiro Roxo) sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) e *Streptococcus oralis* (ATCC 10557).

MATERIAL E MÉTODO

Realizou-se um estudo de abordagem indutiva com procedimento comparativo-estatístico e técnica de documentação direta em laboratório¹³.

Para avaliação antibacteriana in vitro, foram utilizadas as tinturas à base das seguintes plantas: *Salvia officinalis* (Salvia), *Malva sylvestris* (Malva) e do *Anacardium occidentale* (Cajueiro Roxo). As tinturas foram adquiridas na Farmácia Homeopática HOMEOVITAE Ltda (João Pessoa – PB/Brasil), sob a concentração de 20% (200mg/mL) e densidade aproximada de 0,9g/mL.

As cepas de referência dos microrganismos *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) e *Streptococcus oralis* (ATCC 10557), utilizadas nesta pesquisa, foram obtidas do Laboratório de Materiais de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro – RJ/Brasil). As cepas bacterianas foram reativadas em Ágar Sangue a 37°C e estocadas em caldo BHI - Brain Heart Infusion (DIFCO®, São Paulo - SP/Brasil) no Laboratório de Microbiologia Oral – Núcleo de Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba. Para condução do estu-

do, suspensões bacterianas dos microrganismos foram preparadas em caldo BHI, sob a concentração 1,5x10⁸ microrganismos/mL, equivalente à Escala de MacFarland.

A atividade antibacteriana das tinturas foi avaliada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Para tanto, foi empregada a técnica de microdiluição descrita por NCCLS¹⁴, com modificação de Freires et al.¹⁵. Utilizaram-se placas de microdiluição com 96 poços (ALAMAR®, Diadema - São Paulo/Brasil), dispostos em 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H). Cada uma dessas placas destinou-se à análise de um microrganismo. As colunas 1, 2 e 3 foram destinadas à análise antibacteriana da tintura de *Salvia officinalis*; as colunas 4, 5 e 6, à tintura de *Anacardium occidentale* e as colunas 7, 8 e 9, à tintura de *Malva sylvestris*. A coluna 10 foi destinada ao Controle de Crescimento; a coluna 11, ao Controle de Esterilidade; e a coluna 12, ao Controle Positivo (digluconato de Clorexidina 1,2mg/mL – Formulação comercial).

Em cada um dos poços das placas de microdiluição, foram inseridos 100µL de caldo BHI duplamente concentrado. Em seguida, inseriram-se 100µL das tinturas avaliadas para obtenção da concentração inicial de 100,0mg/mL na primeira linha da placa de microdiluição. As concentrações subsequentes das tinturas foram obtidas após diluição seriada dos produtos naturais, na placa de microdiluição, partindo-se da concentração inicial de 100,0mg/mL (Linha A) até 0,78mg/mL (Linha H), pela transferência de 100µL do conteúdo ao poço subsequente. Para os poços da linha H, foram dispensados 100µL do conteúdo, de modo a igualar o volume total dos poços.

Posteriormente, foram inseridos 10µL da suspensão bacteriana (1,5x10⁸ microrganismos/mL) em todos os poços, exceto na coluna correspondente ao controle de esterilidade. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°, por 24h. A CIM correspondeu à menor concentração das tinturas na qual se observou, após o período de incubação, a inibição da atividade de microrganismos e a ausência de precipitado microbiano ou turvação no meio de cultura^{14,16}.

Todos os testes foram realizados em triplicata, e os dados foram analisados, descritivamente, pela obtenção das médias de CIM.

RESULTADOS

A metodologia empregada neste estudo foi validada pela ausência de crescimento bacteriano para o controle de esterilidade e controle positivo (Gluconato de Clorexidina 1,2mg/mL – Formulação comercial), bem como pela presença de crescimento bacteriano para o controle de crescimento.

Os valores da CIM encontrados para as tinturas analisadas frente aos microrganismos estudados estão descritos no Quadro 01.

Quadro 01 - Concentração Inibitória Mínima (CIM), em mg/mL, das tinturas testadas sobre cepas de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175) e de <i>Streptococcus Oralis</i> (ATCC 10557)			
Tinturas	<i>S. officinalis</i> (Sálvia)	<i>M. sylvestris</i> (Malva)	<i>A. Occidentale</i> (Cajueiro Roxo)
Cepas			
<i>S. mutans</i>	3,12	6,25	1,56
<i>S. oralis</i>	0,78	3,12	0,78

DISCUSSÃO

O método de referência para a técnica de microdiluição e determinação da sensibilidade de bactérias de crescimento aeróbico à terapia antibacteriana (M7-A6), descrita por NCCLS¹⁵ (2003), considera para a avaliação de agentes antimicrobianos sintéticos a utilização do meio de cultura Caldo Mueller-Hinton. Entretanto, o presente estudo foi desenvolvido em condições diferentes das estabelecidas por NCCLS¹⁴.

Segundo Nascimento et al.¹⁷, a normatização M7-A6 proposta pelo NCCLS não pode ser seguida à risca quando da avaliação antimicrobiana de produtos naturais. Considera-se que as propriedades químicas dos extratos vegetais diferem daquelas apresentadas pelas substâncias para a qual a norma foi padronizada. Ou seja, a normatização do NCCLS não atende às especificidades de produtos não sintéticos. Dessa forma, foi reproduzido o protocolo descrito por Freires et al.¹⁵ (2010), no qual foi empregado o meio de cultura Caldo BHI e o controle com Clorexidina 0,12%. Devido às tinturas utilizadas neste estudo consistirem em soluções hidroalcoólicas (hidrofílicas), a incorporação de emulsificante (Tween 80) na avaliação antifúngica desses produtos é desnecessária.

Ao comparar as técnicas de disco-difusão e microdiluição para avaliação da atividade antifúngica de produtos naturais, Scorzoni et al.¹⁸ identificaram que a microdiluição foi mais sensível para determinação da CIM. Dessa forma, para minimizar a inconsistência dos resultados obtidos, foi empregada a técnica de microdiluição em caldo, com o objetivo de proporcionar maior contato entre os produtos testados e as células bacterianas. Associado a esses fatores, a incorporação do Controle Positivo, Controle de Esterilidade e Controle de Crescimento contribuem para a redução de vies metodológico e comparação entre os produtos naturais testados^{18,19}.

O Controle de Esterilidade, o Controle de Crescimento e o Controle Positivo (Digluconato de clorexidina- suspensão comercial – 1,2mg/mL) foram empregados de modo a validar a técnica utilizada neste estudo. O Controle de Esterilidade e o de Crescimento comprovaram, respectivamente, a ausência de contaminação do meio de cultura e a viabilidade das cepas testadas. A ausência de crescimento bacteriano diante da clorexidina (1,2mg/mL) demonstra a susceptibilidade das amostras frente a um antimicrobiano sintético. Considerando-se as diferenças entre a natureza química dos produtos naturais e do Controle Positivo, não é possível comparar as concentrações inibitórias mínimas obtidas frente aos microrganismos testados.

Segundo Nascimento et al.¹⁷, os produtos naturais apresentam maior atividade antimicrobiana quando na formulação de óleos essenciais, justificada pela maior concentração de princípios ativos e natureza lipídica do óleo essencial. A natureza lipossolúvel dos óleos essenciais e de seus constituintes permite a interação com estruturas celulares que tenham constituição lipídica, resultando no aumento da permeabilidade das membranas, o que pode provocar desequilíbrio eletrolítico e morte celular^{17,19}. As tinturas avaliadas nessa investigação foram utilizadas com base na concentração inicial de 20%, sendo resultado de processos químicos de diluição em álcool etílico (característica hidrossolúvel). Considerando a disponibilidade comercial de extratos naturais para uso terapêutico, a literatura mostra que as tinturas de produtos naturais apresentam atividade antimicrobiana e concentração de princípios ativos inferiores aos óleos essenciais¹⁷.

Extratos de seis plantas, dentre os quais o extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis*, foram testados por Weckesser et al.²⁰ (2007), mostrando ação antimicrobiana da *Salvia officinalis* sobre 29 bactérias aeróbias, anaeróbias e leveduras. Kermanshah et al.¹² avaliaram a atividade antimicrobiana do

extrato hidroalcoólico *Salvia officinalis* e *Pimpinella Anisum*, VG preparados com o método da maceração frente as bactérias cariogênicas e encontraram resultado significativo para o *S. mutans*, obtendo uma CIM de 6,25mg/mL, por meio do método de microdiluição em caldo. Os resultados deste estudo corroboram os achados da literatura, ao apresentar a atividade antibacteriana da tintura da *Salvia officinalis* frente às cepas *S. oralis* e *S. mutans*, estudadas em meio líquido, na concentração de 0,78 e 3,12 mg/mL, respectivamente.

Araújo et al.³ encontraram atividade bacteriostática e bactericida do extrato da casca do caule do *Anacardium occidentale*, in vitro, nas concentrações 25,0% e 12,5%, sobre *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, e *Lactobacillus casei*. Os resultados deste estudo superaram os achados de Araújo et al.³, ao demonstrarem o efeito inibitório da tintura de *Anacardium occidentale* em concentrações inferiores a 1,56mg/mL.

Pereira et al.⁶ avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato do caule do *Anacardium occidentale* sobre três linhagens bacterianas cariogênicas e formadoras de placa supra-gengival (*S. mitis*, *S. mutans* e *S. sanguis*). Os mesmos autores identificaram que as cepas bacterianas foram susceptíveis na concentração de 6,25mg/mL, com inibição do crescimento homogêneo, de acordo com o grau de concentração do extrato da planta. No presente trabalho, a tintura do *Anacardium occidentale* demonstrou o melhor efeito inibitório e menores valores de CIM frente às cepas *S. oralis* e *S. mutans*, em comparação às demais tinturas analisadas.

Lima et al.²¹ avaliaram a atividade antimicrobiana de ácidos anacárdicos provenientes do óleo da casca da castanha do *Anacardium occidentale* sobre microrganismos da cavidade bucal (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Candida utilis*) e encontraram que esses ácidos apresentam atividade sobre todos os microrganismos testados, com maior ação inibitória foi sobre o *Streptococcus mutans*. Segundo Silva et al.²¹, a atividade dos extratos vegetais do *Anacardium occidentale* se deve à presença de polifenóis, taninos e flavanoides, que constituem esse produto natural. Esses achados podem justificar o efeito antimicrobiano demonstrado pela tintura da casca do caule do *Anacardium occidentale*, frente às cepas de *S. mutans*, de *S. oralis*.

Quando comparada aos demais produtos avaliados neste estudo, a tintura da *Malva sylvestris* apresentou menor atividade antimicrobiana frente a *Streptococcus sp.*, obtendo CIM nas concentrações 3,12 e 6,25 mg/mL para cepas bacterianas. Não foram identificados estudos que considerassem o efeito inibitório de extratos vegetais de *Malva sylvestris* por meio da técnica de diluição em caldo e determinação da CIM.

Ao avaliar a eficácia dos extratos de quatro plantas (*Malva sylvestris*, *Calendula officinalis*, *Plantago major* e *Curcuma zedoaria*) no controle da placa bacteriana, Buffon et al.¹¹ identificaram todos os extratos que inibiram o crescimento de microrganismos, sendo os halos de inibição do extrato de *Malva sylvestris* iguais a 11,67mm. Assim, o presente estudo corrobora os achados de Buffon et al.¹¹ ao confirmar o efeito antibacteriano da tintura de *Malva sylvestris* sobre *S. mutans* e *S. oralis*.

Os resultados deste estudo corroboraram os achados da literatura. Entretanto, é importante destacar a dificuldade de comparação entre os achados da literatura devido às diferentes técnicas empregadas e aos aspectos concernentes à natureza dos extratos vegetais. As investigações sobre a atividade antimicrobiana de produtos naturais devem considerar aspectos edáficos (características climáticas que influenciam na composição química), o estágio de desenvolvimento do vegetal quando da coleta, a parte da planta estudada, a forma de preparo do material para estudo e os protocolos seguidos nos experimentos. O presente estudo buscou suprir essas dificuldades e evitar o vies na avaliação dos resultados. Para

tanto, os produtos naturais testados foram obtidos de farmácia de manipulação, e as técnicas empregadas foram baseadas na literatura.

Considerando-se as limitações deste estudo *in vitro*, os melhores resultados foram encontrados para a tintura de *Anacardium occidentale*, a qual obteve menores valores de CIM. O prosseguimento dos ensaios laboratoriais devem considerar a avaliação da atividade antibacteriana diante de cepas clínicas e outras linhagens padronizadas, empregando técnicas que considerem o isolamento de fitoconstituintes, a aderência celular, a formação de biofilme *in vitro*, a influência da saliva humana e a toxicologia desses produtos.

CONCLUSÃO

Diante dos achados laboratoriais, concluiu-se que as tinturas da *Salvia officinalis*, *Malva sylvestris* e *Anacardium occidentale* apresentam atividade antibacteriana frente às cepas de *S. mutans* e de *S. oralis*.

REFERÊNCIAS

- 1 - Souza FB, GIL JN. Doença cárie: nem infecciosa, nem transmissível. RGO. 2001; 49(3): 139-144.
- 2 - Carretto CFP, Navas EAFA, Paradella TC, Oliveira LD, Junqueira JC, Jorge AOC. Efeitos do chá de tomilho sobre a aderência *in vitro* de *Streptococcus mutans* ao esmalte dentário e *Candida albicans* à resina acrílica. Revista de Odontologia da UNESP. 2007; 36(3): 281-286.
- 3 - Araújo CRF, Pereira JV, Pereira MSV, Alves PM, Higino JS, Martins AB. Concentração Mínima Bactericida do Extrato do Cajuero sobre Bactérias do Biofilme Dental. Pesq Bras Odontoped Clin Integr. 2009; 9(2): 187-191.
- 4 - Alves PM, Queiroz LMG, Pereira JV, Pereira MSV. Atividade antimicrobiana, antiaderente e antifúngica *in vitro* de plantas medicinais brasileiras sobre microrganismos do biofilme dental e cepas do gênero *Candida*. Rev Bras Soc. 2009; 42(2):222-224.
- 5 - Castro SL. "In vivo" Study efficacy of antiseptics on microbial microorganisms of the oral cavity. Rev Dent. 2001; 1:1-9.
- 6 - Pereira JV, Sampaio FC, Pereira MSV, Melo AFM, Higino JS, Carvalho AAT. In vitro antimicrobial activity of an extract from *Anacardium occidentale* Linn. on *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*. Odontol Cclin- Cient. 2006; 5(2): 137-141.
- 7 - Molina FP, Majewski M, Perrela FA, Oliveira LD, Junqueira JC, Jorge AOC. Própolis, sálvia, calêndula e mamona – atividade antifúngica de extratos naturais sobre cepas de *Candida albicans*. Cienc. Odontol. Bbras. 2008; 11 (2): 86-93.
- 8 - Matos BM, Deco CP, Oliveira LD, Jorge AOC, Balducci I, Koga-Ito CY. Comparação da atividade antimicrobiana de soluções de peróxido de hidrogênio e malva sobre *Candida albicans*. Cienc. Odontol. Bbras. 2009; 12 (2): 24-28.
- 9 - Silva MD, Dreveck S, Zeni ALB. Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pela população rural no entorno do Parque Nacional da Serra do Itajaí – Indaial. Health Environ J. 2009; 10(2): 54-64.
- 10 - Fenner R, Betti AH, Mentz LA, Rates SMK. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. Rev. Bbras. Cienc. Farm. 2006; 42(3): 369-394.
- 11 - Buffon MCM, Lima MLC, Galarda I, Cogo L. Avaliação da eficácia dos extratos de *Malva sylvestris*, *Calêndula officinalis*, *Plantago major* e *Curcuma zedoaria* no controle do crescimento das bactérias da placa dentária. Estudo "in vitro". Revista Visão Acadêmica. 2001; 2(1): 31-38. Disponível

em: <http://www.visaoacademica.ufpr.br/>. Acesso em: 12 set. 2012.

- 12 - Kermanshah H, Hashemi KSAS, Arami S, Mirsalehian A, Kamalinezhad M, Karimi M, et al. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Hydroalcoholic Extract of *Salvia officinalis* and *Pimpinella Anisum* against cariogenic bacteria. Journal of Dental Medicine Summer 2009; 22(2 (59)):149-154.
- 13 - Lakatos EM, Marconi MA. Fundamentos da metodologia científica. 6ª. ed. São Paulo: Atlas, 2009.
- 14 - National Committee for Clinical Laboratory Standard. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, Approved Standard - M7-A6, ed 6, v. 23, 2003.
- 15 - Freires IA, Alves LA, Jovito VC, Almeida LFD, Castro RD, Padilha WWN. Atividades antibacteriana e antiaderente *in vitro* de tinturas de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. Odontologia Cclin. ico-Científica (Online). 2010; 9(2): 139-143. Disponível em: http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_issuetoc&pid=1677-388820100002&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 12 set. 2012.
- 16 - Aliannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou JB. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two Origanum Species. J Agric Food Chem. 2001; 49(9): 4168-70.
- 17 - Nascimento PFC, Nascimento ALC, Rodrigues CS, Antonioli AR, Santos PO, Barbosa-Júnior AM, et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. Rev. Bbras. Farmacogn. 2007; 17(1): 108-13.
- 18 - Scorzoni L, Benaducci T, Almeida AMF, Silva DHS, Bolzani VS, Mendes-Giannini MJS. Comparative study of disk diffusion and microdilution methods for evaluation of antifungal activity of natural compounds against medical yeasts *Candida* spp and *Cryptococcus* sp. Rev. Ciênc. Farm. Bbás. Apl. 2007; 28(1): 25-34.
- 19 - Castro RD, Lima EO. Atividade antifúngica *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* L. sobre *Candida* spp. Rev. Odontol UNESP. 2010; 39(3): 179-184.
- 20 - Weckesser S, Engel K, Simon-Haarhaus, Wittmer A, Pelz K, Schempp CM. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. Phytomedicine. 2007; 14(7-8): 508-516.
- 21 - Lima CAA, Pastore GM, Lima EDPA. Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (CNSL) dos clones de cajueiro-anão-precoce CCP-76 e CCP-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal. Ciênc. Tecnol. Aliment. 2000; 3(20):1-10.

Recebido para publicação: 25/10/11
Aceito para publicação: 02/08/12