**RESUMO**

**Objetivo:** Avaliar o efeito antiaderente de fitoterápicos sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). **Materiais e Métodos:** Foram analisadas as tinturas de *Plectrantus amboinicus*, *Conyza bonariensis* e *Cymbopogon citratus* em diferentes concentrações para determinação da concentração inibitória mínima de aderência (CIMA). A clorexidina constituiu o controle positivo, enquanto o álcool de cereais o controle negativo. Para determinar a CIMA, o *S. mutans* foi inoculado em caldo Mueller Hinton enriquecido com sacarose 10%, na presença de concentrações variadas dos produtos, sendo os tubos de ensaio posicionados em inclinação de 30º, em microaerofilia por 48 horas, proporcionando a verificação visual da formação da película de aderência ao vidro. Todos os testes foram realizados em duplicata, sendo os dados analisados por meio da estatística descritiva. **Resultados:** O *S. mutans* foi sensível às tinturas com CIMA de 180 µg/mL. **Conclusão:** As tinturas mostraram-se efetivas na inibição de aderência contra *S. mutans* ao vidro.

**DESCRITORES:** Fitoterapia, Microbiologia, Aderência Bacteriana

**ABSTRACT**

**Objective:** To evaluate the anti-adherent effect of phytoterapics on *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). **Materials and Methods**: We analyzed the tinctures of *Plectrantus amboinicus*, *Conyza bonariensis* and *Cymbopogon citratus* in different concentrations to determine the minimum inhibitory concentration of adhesion (ICMA). Chlorhexidine was the positive control, while the grain alcohol the negative controls. To determine the ICMA, S. mutans was inoculated on Mueller Hinton broth supplemented with 10% sucrose in the presence of varying concentrations of the products, and the test tube placed in a 30 ° tilt in microaerophilic conditions for 48 hours, giving a visual check of the formation of the adhesive film to glass. All tests were performed in duplicate, and the data analyzed using descriptive statistics. **Results:** The S. mutans was sensitive to dyes with a ICMA of 180 mg / mL. **Conclusion:** The tinctures proved to be effective on the adhesion inhibition against S. mutans to the glass.

**KEYWORDS:** Phytotherapy; Microbiology, Bacterial Adhesion

**INTRODUÇÃO**

Ainda que a cárie dentária possua origem multifatorial, o principal fator etiológico é a presença de biofilme dentário, que determina a desmineralização do tecido duro do dente e evolui formando cavidade10,13. Nesta perspectiva, as estratégias para prevenção e tratamento da doença, devem incluir medidas que interfiram na formação do biofilme. Portanto, torna-se de interesse clínico o uso de substâncias antimicrobianas e/ou antiaderentes como auxiliares no controle da microbiota oral, de modo que ajudem a manter o equilíbrio do ecossistema bucal11,19.

A maioria dos produtos comercializados para este fim apresenta um elevado custo. Os fitoterápicos se constituem em uma excelente opção, possuindo, dentre outras vantagens: baixo custo, possibilidade de efeito sinérgico com algumas drogas convencionais e poucos efeitos colaterais quando corretamente utilizada11,28.

Entretanto, seu uso está baseado em conhecimento empírico que, aliado à crença de que por ser natural não causa reações adversas, torna essa prática perigosa, caso não seja acompanhada por um profissional capacitado, necessitando que, aliados ao empirismo, estejam o conhecimento científico e a comprovação de benefícios à saúde humana28.

A presença de constituintes diversos no fitoterápico favorece ações também diversificadas e aplicações variadas. O mesmo fitoterápico pode apresentar inúmeros mecanismos de ação e atuar sobre muitos sítios simultaneamente, produzindo efeitos diferentes, como: ação antimicrobiana, antiaderente e anti-inflamatória. Contudo, a inexistência de algum desses efeitos não invalida a importância de outros no controle de doenças bucais como a cárie dentária11,19.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antiaderente de tinturas fitoterápicas sobre *Streptococcus mutans*.

**METODOLOGIA**

Foram avaliados três fitoterápicos, sob a forma de tinturas, contendo *Plectrantus amboinicus, Conyza bonariensis* e *Cymbopongon citratus*, adquiridos em farmácia de manipulação. Como controles negativo e positivo, respectivamente, foram utilizadas as soluções de álcool de cereais a 70%, veículo para fabricação das tinturas, e clorexidina a 0,12%. A cepa de *S. mutans* utilizada foi a ATCC 25175.

Para avaliação da capacidade antiaderente, empregou-se a metodologia proposta por Pereira et al. (2006). Após confecção das “placas mãe”, inóculos do microrganismo foram produzidos em tubos de ensaio contendo BHI caldo com incubação por 24 horas, em microaerofila, a 37º C. Posteriormente, 50 µL desse inóculo foram dispensados em outros tubos de ensaio contendo 1,8 mL de meio de cultura Mueller Hinton caldo acrescido de 10% de sacarose. Em seguida, adicionou-se 0,2 mL das tinturas em concentrações variadas. Em seguida, os tubos de ensaio inclinados em 30º foram incubados em microaerofilia a 37º C por 48 horas.

Após o período de incubação, o meio foi dispensado e os tubos lavados com solução de tampão fosfato salino por duas vezes para remoção das bactérias fracamente aderidas. Um dos tubos da duplicata foi corado com evidenciador de placa Replac ®.

O outro tubo da duplicata forneceu material para que, com auxílio de alça de platina, por meio da técnica do esgotamento, alíquotas do material contido no meio líquido e aderido ao tubo fossem semeadas em placas contendo ágar sangue e incubadas a 37ºC, por 48 horas, em microaerofilia, com posterior realização da coloração pelo método de Gram e do teste da catalase para confirmar presença de *S. mutans* (catalase negativo) e não contaminação da amostra.

Os resultados foram submetidos à análise descritiva, verificando-se a atividade antiaderente das soluções fitoterápicas sobre as cepas padrão em teste, considerando a maior diluição capaz de impedir a adesão dos microrganismos à superfície do vidro.

**RESULTADOS**

As concentrações das tinturas capazes de inibir a aderência de *S. mutans* ao vidro são 41,67 vezes menores que a comercialmente disponível das mesmas (200mg/mL). Os resultados estão descritos na tabela 1.

**TABELA 1. Valores de CIMA para todos os produtos analisados.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | ***Cymbopogon citratus*** | ***Plectranthus amboinicus*** | ***Conyza bonariensis*** |
| *S. mutans* | 180 µg/mL | 180 µg/mL | 180 µg/mL |

A formação de película de adesão foi inexistente nos tubos de ensaio contendo clorexidina até a 7ª diluição, apresentando CIMA de 0,9 µg/mL. O álcool de cereais, presente nas concentrações das tinturas capazes de inibir a formação da película, apresentou CIMA de 6.600 µg/mL, valor este pouco expressivo, não podendo ser associado como potencializador do efeito antiaderente das tinturas.

**DISCUSSÃO**

Mesmo com o desenvolvimento de medidas preventivas cada vez mais eficazes, a cárie dentária permanece como a doença bucal mais frequente no Brasil, com prevalência aproximada de 57% aos 12 anos de idade, segundo dados do Ministério da Saúde3.

As superfícies da cavidade oral são constantemente colonizadas por microrganismos, sendo que os estreptococos constituem parte essencial dessa microbiota23. A patogenicidade do biofilme é resultado de interações proteínas-bactérias e bactérias-bactérias, produzindo compostos que auxiliam na manutenção da estrutura do próprio biofilme e na destruição dos tecidos que servem de substrato para o estabelecimento da colonização10,13.

A total destruição da microbiota bucal deve ser evitada, uma vez que a mesma serve também como arcabouço protetor aos tecidos orais, tendo os microrganismos presentes no ambiente bucal uma relação de comensalidade com o hospedeiro24. Essa importante constatação tem estimulado estudos que direcionem não apenas os efeitos antimicrobianos das drogas teste, mas principalmente aos efeitos anti-aderência destes produtos ou a constituição de novas interações com a finalidade de limitar ou controlar a formação de biofilme patogênicos13,19,24.

*S. mutans*, *S. sobrinus* e outros membros de estreptococos bucais do grupo mutans são capazes de produzir enzimas denominadas glicosiltransferases, que hidrolizam a sacarose da dieta em glicose e frutose, e unem os resíduos de glicose entre si por meio de ligações glicosídicas para formar glucanos insolúveis, que irão conferir aos microrganismos a capacidade de aderir às superfícies lisas dos dentes e formar a matriz do biofilme12,13,15.

A aderência específica de *S. mutans* e de outros microrganismos aos glucanos aderentes e insolúveis e a subsequente formação de ácidos, promovem a desmineralização do esmalte dentário e o início das lesões de cárie10,12,13,15.

Outros estreptococos bucais, incluindo *S. sanguis*, *S. salivarius* e possivelmente *S. gordonii*, também podem sintetizar estes polissacarídeos, mas apenas os estreptococos do grupo mutans apresentam aumento de colonização induzido pela sacarose12,13. Por esse motivo, apenas *S. mutans* foi escolhido para avaliação de CIMA.

Além disso, *S. mutans* também parece produzir maior quantidade de ácidos a partir de carboidratos do que outras bactérias bucais, porque são capazes de fermentar grande variedade de açúcares e são mais resistentes aos ácidos do que outros estreptococos. Esses microrganismos também sintetizam polissacarídeos intracelulares que podem ser metabolizados para produzir ácidos na ausência de carboidratos fermentáveis exógenos12,13.

As células de *S. mutans* são Gram positivas, têm morfologia ovalada, medem cerca de 0,5 a 0,75 µm de diâmetro, agrupam-se aos pares ou em cadeias, requerem meios nutricionalmente ricos para seu crescimento, são anaeróbios facultativos e sua temperatura ótima de crescimento é de 37ºC. Quando cultivados em ágar sangue em microaerofilia por 48 horas, as colônias de *S. mutans* apresentam-se brancas ou cinzas, circulares ou irregulares com 0,5 a 1,0 mm de diâmetro, tendendo a aderir na superfície do ágar9. Essas características correspondem às observações desta pesquisa quando da identificação do microrganismo e avaliação de controle de contaminação.

A busca por substâncias com atividade antimicrobiana e antiaderente é um desafio contínuo e produtos naturais se mostram uma opção interessante devido à boa aceitação da população, que empiricamente conhece seus efeitos no tratamento de infecções diversas. Atualmente, tem-se como proposta a utilização destes agentes em combinações de plantas, como fitomedicamentos, ou como auxiliares associados aos fármacos comerciais11,17,19.

Sua grande importância está no fato de apresentar, entre outras vantagens, baixo custo e efeitos colaterais mínimos quando corretamente empregada, sendo fonte de novos compostos biologicamente ativos8,17,28.

A fitoterapia existe principalmente no mercado informal, o que representa grande perigo à saúde da população, pois, neste caso, sua comercialização ocorre desconsiderando os aspectos relativos ao controle de identidade e/ou pureza. É indiscutível a necessidade de um maior e melhor controle nesse ramo cosmético e farmacêutico, pois os fitoterápicos representam uma alternativa economicamente viável à população6.

Vários estudos têm se destinado à investigação de atividade antimicrobiana de produtos naturais contra microrganismos da cavidade oral6,18,21,25,26. Entretanto, são poucos os estudos que referem o *Plectrantus amboinicus, Conyza bonariensis* e *Cymbopongon citratus* como potenciais antibacterianos sobre *S. mutans*.

A clorexidina 0,12% é considerada um potente anti-séptico, tendo sido amplamente estudada, sendo empregada como controle positivo em trabalhos semelhantes a presente pesquisa, apresentando atividade antibactriana e antiaderente21,27, sendo, por esse motivo, também utilizada como controle positivo nesta pesquisa.

Para definir a atividade antiaderente das tinturas em avaliação, considerou-se importante o uso do veículo para sua fabricação como controle negativo, na tentativa de compreender se os efeitos observados neste trabalho são, de fato, devido aos fitocompostos ou ao álcool de cereais presente na sua formulação18,25,26.

Na tentativa de elucidar os fenômenos de interações microbianas, coagregação, aderência e metabolismo dos diferentes microrganismos bucais, muitos modelos *in vitro* têm sido desenvolvidos, embora nesse tipo de estudo existam vantagens e desvantagens1,11.

Landucci et al. (2003) avaliaram a capacidade inibitória de soluções cafeinadas sobre aderência de *S. mutans* em bengalas de vidro, para tanto, utilizaram meio de cultura caldo BHI enriquecido com 10% de sacarose e incubação por 1 hora e 30 minutos, com posterior análise por contagem de UFCs.

Napimoga (2004) avaliando o padrão de clonagem e virulência de isolados clínicos de *S. mutans*, ao realizar montagem do sistema de aderência considerou como substrato o tubo de ensaio, em inclinação de 30º, utilizando como meio de cultura BHI acrescido de 1% de sacarose e incubação por 18 horas.

Já Pereira et al. (2006), analisando a atividade antiaderente da romã, utilizou como método também a adesão ao vidro, entretanto com meio de cultura caldo Mueller Hinton acrescido de 5% de sacarose e incubação por 24 horas com os tubos em inclinação de 30º.

Cardoso Sá et al. (2012) avaliaram efeito sobre o biofilme dentário realizando crescimento de cepas coletadas de saliva humana de alguns voluntários e inoculadas em placas de petri para posterior verificação de efeito antimicrobiano de composto extraído de uma planta medicinal em método de difusão em ágar.

Diante de tantas metodologias, tornou-se interessante realizar um estudo piloto para verificar qual seria o melhor método a empregar na adesão ao vidro, constatando-se que o caldo Mueller Hinton não interfere na atividade das substâncias em teste, e que a concentração de 10% permite maior visualização da película de adesão em tempo superior a 24 horas. Por isso, foi selecionado Mueller Hinton caldo enriquecido com 10% de sacarose, em incubação por 48 horas, com inclinação dos tubos em 30º.

Barbieri (2005) avaliou a capacidade de adesão de *S. mutans* e *C. albicans* isolados e em associação em superfície de dente humano e corpos-de-prova de resina acrílica, constatando ser o período de 48 horas o ideal para melhor evidenciar aderência de *S. mutans* nos dois substratos. Esse achado concorda com o que foi encontrado em nosso estudo piloto, sendo, por esse motivo, adotado o tempo de 48 horas para avaliação antiaderente na presente pesquisa.

Além de apresentarem metodologias diversas para montagem do sistema de aderência, variando na seleção do substrato, opção de meio de cultura a ser empregado, concentração de sacarose e no tempo desprendido para obtenção de adesão, também são inúmeras as formas de avaliação, citando-se a contagem de UFCs, análise em Microscopia Eletrônica de Varredura, Análise em Espectofotometria e avaliação visual da formação de película de adesão1.

O presente trabalho utilizou como método de avaliação de aderência bacteriana ao vidro a verificação visual da formação de película de adesão, neste caso corada com evidenciador de placa para melhor visualização.

Silva et al (2012) realizaram avaliação antimicrobiana de *Plectrantus amboinicus, Conyza bonariensis* e *Cymbopongon citratus* sobre alguns microrganismos da cavidade oral, porém, as referidas tinturas não foram efetivas na inibição do crescimento bacteriano, discordando de Soares et al. (2006) que avaliaram o potencial antibacteriano de diferentes fitoterápicos sobre bactérias da cavidade oral e observaram que *S. aureus, S. mutans,* *S. sanguis*, *L. casei,* *S. mitis e* *S. sobrinus* se mostraram sensíveis à tintura de *Plectrantus amboinicus*, principalmente em sua forma pura.

Mudanças como período, região e estação do ano da coleta das plantas para fabricação do extrato, podem determinar variações de resultado8,17,28.

Destaca-se que, independente de apresentar ou não atividade antimicrobiana sobre as cepas já avaliadas, não se deve desconsiderar os efeitos dos fitoterápicos como inibidores de outras espécies, ou ainda demais funções que possam desempenhar na terapêutica, atuando como agentes antiinflamatórios ou potencializando o efeito de outras drogas convencionais2,11,17,19,22.

Assim como Shuck et al. (2001), outros estudos relatam atividade antimicrobiana das plantas aqui avaliadas2,20, entretanto, esse efeito é observado quando do uso na forma de óleos essenciais. Isso pode se dever ao fato de os principais fitoconstituintes serem voláteis, não sendo mantidas as concentrações quando as plantas são utilizadas em outras formulações20. Selecionou-se o veículo hidroalcoolíco na presente pesquisa por ser menos onerosa a aquisição do produto, o que possibilitaria, caso comprovada a atividade antiaderente, a aquisição dos fitoterápicos também por populações carentes.

As tinturas em estudo apresentaram atividade antiaderente até a diluição de 0,18%. A inexistência de estudos com esses fitoterápicos em avaliações de atividade antiaderente impede maiores discussões sobre os achados obtidos neste trabalho.

O álcool de cereais mostrou limitado efeito antiaderente, não sendo possível considerá-lo como agente intensificador de efeito antiaderente das tinturas aqui avaliadas.

A formação de película de adesão foi inexistente nos tubos de ensaio contendo diluições de clorexidina, concordando com a literatura pesquisada que evidencia o efeito inibidor de aderência deste produto18,21,25,26.

Mesmo não apresentando efeito antimicrobiano sobre os microrganismos testados em trabalho anterior26, as tinturas de *Plectrantus amboinicus, Conyza bonariensis* e *Cymbopongon citratus* podem se constituir em estratégias para a prevenção da cárie dentária, uma vez que promoveram inibição da adesão de *S. mutans* ao vidro.

Contudo, são necessários estudos utilizando outros substratos para aderência microbiana e avaliações de toxicidade, bem como elaboração de ensaios que permitam compreender a interferência do veículo no efeito desses produtos.

Trabalhos em nível laboratorial são necessários para fornecer subsídios à realização de ensaios clínicos posteriores. Contudo, diante das limitações dos estudos *in vitro*, torna-se importante lembrar que estes resultados podem não corresponder aos reais comportamentos das tinturas *in vivo*, uma vez que não estão expostas às mesmas condições da cavidade oral7,8.

**CONCLUSÃO**

As tinturas se mostraram efetivas como inibidoras da adesão de *S. mutans* ao vidro, sendo a atividade antiaderente observada até a CIMA 180 µg/mL presente em todas as tinturas avaliadas. A clorexidina a 0,12% inibiu a adesão de *S. mutans* ao vidro em todas as diluições analisadas.

**AGRADECIMENTOS**

Nossos agradecimentos ao Laboratório de Bacteriologia do Núcleo de Medicina Tropical (NUMETROP) da Universidade Federal da Paraíba. Agradecemos também ao estagiário Renato Souza Lima do Laboratório de Automação e Instrumentação em Química Analítica (LAQA) da Universidade Federal da Paraíba.

**REFERÊNCIAS**

1. BARBIERI, D. S. V. **Análise da aderência *“*in vitro*”* de *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* na superfície dentária.** 2005. 91f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parsitologia e patologia Básica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005

2. BETONI, J. E. C.; MANTOVANI, R. P.; BARBOSA, L. N.; DI STASI, L. C.; FERNANDES JUNIOR, A. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases.**Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.101, n.4, p.387-390, jun. 2006

3. BRASIL. Ministério da Saúde. **Projeto SB Brasil 2010. Condições de saúde bucal da população brasileira.** Resultados Principais. Brasília, 2010.

5. CARDOSO SÁ, N. et al. Antimicrobial and antibiofilm action of Carbane Diterpene from *Croton repetaefolius* against oral bacteria. **Archives of oral biology**. 57, 2012

6. CORDEIRO, C. H. G.; SACRAMENTO, L. V. S.; CORRÊA, M. A.; PIZZOLITTO, A. C.; BAUAB, T. M. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. **Rev Bras Ciênc Farmac**, São Paulo, v. 42, n. 3, p. 395-404, jul./set., 2006

7. GASPARETTO, A.; ARANA-CHAVEZ, V. E.; AVILA-CAMPOS, M. J. Aderência de Actinobacillus actinomycetemcomitans‡s células epiteliais bucais: estabilidade e aspectos ultra-estruturais. **Pesqui Odontol Bras**, São Paulo, v. 14, n. 4, p. 311-318, out/dez, 2000

8. GEBARA, E. C. E; LIMA, L. A; MAYER, M. P. A. Própolis antimicrobial activity against periodontopathic bactéria. **Braz. J. Microbiol**., São Paulo, v. 33, n. 4, p. 365-369, oct/dec, 2002

9. GOLD, O. G.; JORDAN, H. V.; VAN HOUTE, J. A. apud BARBIERI, D. S. V. **Análise da aderência *“* in vitro*”* de S*treptococcus mutans* e C*andida albicans* na superfície dentária.** 2005. 91f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parsitologia e patologia Básica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005

10. HUANG, R.; LI, M.; GREGORY, R. L. Bacterial interactions in dental biofilm. **Virulence**, sep-oct, v. 2, n. 5, p. 435-444, 2011

11. JEON, J. G. Natural products in caries research: current (limited) knowledge, chellenges and future perspective. **Caries Research**. Jul, v. 45, n.3, p. 243-263, 2011

12. KOLENBRANDER, P. E.; LONDON, J. Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.175, n.11, p.3247-3252, June.1993

13. KRZYSCIAK, W. et al. The virulence of Streptococcus mutans and the ability to form biofilms. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.** V. 33, n.4, p.499-515, 2014

14. LANDUCCI, L. F. Efeitos de *Coffea arabica* sobre a aderência de *Streptococcus mutans* à superfície de vidro. **Cienc Odontol Bras,** São José dos Campos,v. 6, n.3, p. 58-64,jul./set., 2003

15. MAKAYA, N. I. C. **Avaliação de crescimento de culturas de streptococcus mutans e de atividade da glicosiltransferase.** 2007. 40f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, 2007

16. NAPIMOGA, M. H. **Avaliação do padrão de clonalidade e virulência de *S. mutans* isolados de indivíduos livres de cárie e cárie-ativos.** 2004. 62f. Dissertação (Mestrado em Cariologia) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2004

17. NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria**. Braz. J. Microbiol**, São Paulo, v.31, n.4, p. 247-256, out./dez, 2000

18. NEVES, A. S; SILVA, N. B; MEDEIROS, M. I. D.; COSTA, A. C.; VALENÇA, A. M. G. Avaliação da ação antimicrobiana de tinturas fitoterápicas sobre *Fusobacterium nucleatum.* **Revista de Iniciação Científica em Odontologia**, João Pessoa, v. 4, n. 1, jan/dez. 2005. CD-ROM

19. PALOMBO, E. A. Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity against Oral Bacteria: Potential Application in the Prevention and Treatment of Oral Diseases. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, 2011

20. OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, G. O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S.; SILVA-FILHO, R. N.Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Rev. Bras. Farmacogn.**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 77-82 ,jan/mar. 2006

21. PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.; SAMPAIO, F. C.; SAMPAIO, M. C. C.; ALVES, P. M.; ARAÚJO, C. R. F.; HIGINO, J. S. Efeito antibacteriano e antiaderente *in vitro* do extrato da *Punica granatum* Linn*.* sobre microrganismos do biofilme dental*.***Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 1, p. 88-93, Jan./Mar. 2006

22. SCHUCK, V. J. A.; FRATINI, M.; RAUBER, C. S.; HENRIQUES, A.; SCHAPOVAL, E. E. S. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*.**Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 45-49, jan./abr. 2001

23. SEABRA, E. J. G et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” de compostos a base de hidróxido de cálcio e tergentol em diferentes concentrações sobre bactérias orais**Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 20, supl 1, p. 12-18. 2005

24. SELEHI, R. et al. Effects of Lactobacillus reuteri-derived biosurfacectnt on the gene expression profile of essential adhesion genes (gtfB gtfC and ftf) of *Streptococcus mutans*. Adv. Biomed. Res. V. 3, p. 169, 2014

25. SILVA, N. B.; CLAUDINO, L. V.; NEVES, A. S.; COSTA, A. C.; VALENÇA, A. M. G. Avaliação da atividade antibacteriana de tinturas fitoterápicas sobre *Porphyromonas gingivales* e *Prevotella melaninogenica*. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr**, João Pessoa, v. 6, n. 2, p. 167-171, mai./ago. 2006

26. SILVA, N. B., ALEXANDRIA AK, DE LIMA AL, CLAUDINO LV, DE OLIVEIRA CARNEIRO TF, DA COSTA AC, et al. In vitro antimicrobial activity of mouth washes and herbal products against dental biofilm‑forming bacteria. **Contemp Clin Dent** 2012; 3:302-5

27. SOARES, D. G. S.; OLIVEIRA, C.B.L.C.; LEAL, C.; DRUMOND, M. R. S.; PADILHA, W. W. N. Suscetptibilidade *in vitro* de bactérias bucais a tinturas fitoterápicas. **Rev Odonto Ciência**. Porto Alegre, v. 21, n. 53, p. 232-237, jul./set. 2006

28. YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL-FILHO, V.Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Quím. Nova**, São Paulo. v.24, n. 1, p. 147-152, jan./fev. 2001