

Atividade Antiaderente de Produtos Fitoterápicos sobre *Streptococcus mutans*

Anti-adherent activity of phytotherapeutic products on *Streptococcus mutans*

NAIANA BRAGADA SILVA¹
ANA MARIA GONDIM VALENÇA²
ADALBERTO COELHO DA COSTA³
RICARDO DIAS DE CASTRO⁴
ALESSANDRO LEITE CAVALCANTI⁵

RESUMO

Introdução: A cárie dentária ainda é um dos problemas de saúde bucal mais prevalentes, sendo importante o desenvolvimento de novas terapêuticas para controle da doença. **Objetivo:** Avaliar o efeito antiaderente de diferentes fitoterápicos sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). **Material e Métodos:** Foram analisadas as tinturas de *Plectranthus amboinicus*, *Conyza bonariensis* e *Cymbopogon citratus*, adquiridas em farmácia de manipulação, utilizadas em diferentes diluições para determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA). A clorexidina 0,12% 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 10% de sacarose, na presença de concentrações variadas dos produtos, sendo os tubos de ensaio posicionados em inclinação de 30° e incubados em microaerofilia por 48 horas, proporcionando a verificação visual da formação da película de aderência ao vidro. Após incubação, os tubos foram lavados com solução tampão fosfato e corados com evidenciador Replak®. Todos os testes foram realizados em duplicata, sendo os dados analisados por meio da estatística descritiva. **Resultados:** Os *S. mutans* não ficaram aderidos ao vidro por ação das tinturas, com CIMA de 200 µg/mL. **Conclusão:** As tinturas analisadas mostraram-se efetivas na inibição de aderência contra *S. mutans* ao vidro.

DESCRIPTORIOS

Fitoterapia; Microbiologia Oral; Aderência Bacteriana.

ABSTRACT

Introduction: Dental caries remains one of the most prevalent oral diseases, which encourages the development of new therapeutic alternatives aiming at its control. **Objective:** To evaluate the anti-adherent effects of phytotherapeutic agents against *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). **Material and Methods:** The tinctures of *Plectranthus amboinicus*, *Conyza bonariensis* and *Cymbopogon citratus*, obtained in compounding pharmacy, were used in this study for determination of their Minimum Inhibitory Concentration of Adherence (MICA). Chlorhexidine (0.12%) and grain alcohol were used as the positive and negative controls, respectively. In order to determine the MICA, *S. mutans* was inoculated in Mueller Hinton broth supplemented with 10% sucrose in the presence of different concentrations of the products. Then the test tubes were placed in an incubator with a 30° tilt angle under microaerophilic atmosphere for 48 h. This procedure allowed for the development of an adhesive pellicle onto the glass. Subsequently, the tubes were washed with phosphate buffer solution and dyed with plaque disclosing solution (Replac). All tests were performed in duplicate and the data were analyzed using descriptive statistics. **Results:** The MICA of the tinctures that prevented *S. mutans* adherence to the glass tubes was 200 µg/mL. **Conclusion:** The tinctures proved to be effective in preventing *S. mutans* adherence to glass tubes.

DESCRIPTORS

Phytotherapy; Microbiology; Bacterial Adhesion.

1 Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campina Grande/PB, Brasil.
2 Professora Titular do Departamento de Odontologia Social da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa/PB, Brasil.
3 Professor Adjunto do Departamento de Farmácia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa/PB, Brasil.
4 Professor do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa/PB, Brasil.
5 Professor do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campina Grande/PB, Brasil.

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 Saúde¹.

As superfícies da cavidade oral são constantemente colonizadas por microrganismos, sendo que os estreptococos constituem parte essencial dessa microbiota². 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 colonização^{3,2}.

Streptococcus mutans, *Streptococcus sobrinus* e outras espécies 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 permitirão aos microrganismos a capacidade de aderir às superfícies lisas dos dentes e formar a matriz do biofilme dentário^{4,5}.

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, podendo evoluir formando cavidade^{4,5,6,7}. Nesta perspectiva, as estratégias para prevenção e tratamento da doença, devem incluir medidas que interfiram na formação do biofilme. Portanto, torna-se necessário o uso de substâncias antimicrobianas e/ou antiaderentes como auxiliares no controle da microbiota oral, mantendo o equilíbrio do ecossistema bucal^{3,7,8}.

A maioria dos produtos comercializados para este fim apresenta custo econômico elevado. 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 utilizados^{3,9}.

Entretanto, seu uso está baseado em conhecimento empírico que, aliado à crença de que por ser um produto 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 humana⁹.

A presença de constituintes variados no fitoterápico favorece diversificadas ações e aplicações clínicas. 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 dentária^{3,7,8}.

Plectractus amboinicus – popularmente conhecida como hortelã-gorda, hortelã-graúda ou malvariço – é uma planta encontrada por toda América tropical, de uso também na culinária, já tendo sido estudada como possível adjuvante no tratamento de doenças infecciosas em associação com fármacos industrializados, podendo ter efeito antagônico ou sinérgico a depender da espécie microbiana avaliada¹⁰.

A *Conyza bonariensis*, conhecida como avoadinha-peluda, erva-pau ou raposa, pode ser encontrada na América e na Europa e é constituída de taninos, flavanóides e polifenóis, que podem lhe conferir bons efeitos antioxidante e antimicrobiano¹¹.

Cymbopogon citratus, também chamado capim-cidreira, capim-santo ou capim-limão, é um vegetal aromático, encontrado em diversas partes do mundo e composta por flavanóides, taninos, alcaloides e fenóis, podendo apresentar diferentes atividades terapêuticas, como anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobiano¹².

Em estudo prévio¹³, buscou-se avaliar o efeito antibacteriano das tinturas fitoterápicas de *Plectractus amboinicus*, *Conyza bonariensis* e *Cymbopogon citratus*, não sendo encontrada ação sobre os microrganismos estudados há época. Considerando que mesmo não agindo como antimicrobiano, um fitoterápico pode auxiliar no controle da cárie ao interferir por outros mecanismos de ação na organização e maturação do biofilme dentário, a presente pesquisa se propôs a dar continuidade aos estudos das plantas supracitadas e verificar a atividade antiaderente destas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados três fitoterápicos, sob a forma de tinturas, contendo *Plectractus amboinicus*, *Conyza bonariensis* e *Cymbopogon citratus*, adquiridos em farmácia de manipulação e testados nas concentrações de 20mg/mL à 0,02µg/mL. 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 *Streptococcus mutans* utilizada foi a ATCC 25175.

Para avaliação da capacidade antiaderente e determinação da Concentração Inibitória Mínima de

Aderência (CIMA), empregou-se a metodologia proposta por Pereira *et al.*², com adaptações. Após confecção das “placas mãe”, inóculos do microrganismo foram produzidos em tubos de ensaio contendo BHI caldo (Brain Heart Infusion broth – BD Difco, Sparks, Maryland, EUA) com incubação por 24 horas, em microaerofilia, a 37° C. Posteriormente, 50 µL desse inóculo devidamente ajustado na escala 0,5 de McFarland 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. Posteriormente, os tubos de ensaio inclinados em 30° foram incubados em microaerofilia a 37° 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 ReplaK (Destply Ind. Com. – Petrópolis, RJ, Brasil).

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 37°C, por 48 horas, em microaerofilia, com posterior realização da coloração pelo método de Gram e do teste da catalase para confirmar presença de *Streptococcus 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 menor concentração capaz de impedir a adesão dos microrganismos à superfície do vidro.

RESULTADOS

As concentrações das tinturas capazes de inibir a aderência de *Streptococcus mutans* ao vidro são 1000 vezes menores que a comercialmente disponível das mesmas, sendo comercializadas a 200mg/mL e efetivas como antiaderentes a 200µg/mL.

A formação de película de adesão foi inexistente nos tubos de ensaio contendo clorexidina. O álcool de cereais, inibiu formação de película de adesão no 1º tubo de diluição, com concentração de 7 mg/mL, valor este pouco expressivo, não podendo ser associado ao efeito antiaderente das tinturas.

DISCUSSÃO

Mudanças como período, região e estação do ano da coleta das plantas para fabricação do extrato, podem determinar variações de resultado^{3,7}, sendo uma limitação desta pesquisa o uso de fitoterápicos obtidos em farmácia de manipulação local, a qual não forneceu dados físico-químicos ou demográficos das referidas plantas utilizadas na fabricação das tinturas. Porém, o uso de produtos já comercialmente disponíveis em pesquisas, como a aqui apresentada, incorpora a esses produtos comprovação de efeitos terapêuticos e favorece sua aplicação de forma segura à população que já tem acesso livre aos mesmos. O presente estudo possibilita associar o conhecimento científico ao empirismo no uso desses produtos.

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 hospedeiro^{7,14}. Essa importante constatação tem estimulado estudos que direcionem não apenas os efeitos antimicrobianos das drogas teste, mas principalmente aos efeitos de antiaderência destes produtos ou a constituição de novas interações com a finalidade de limitar ou controlar a formação de biofilme patogênicos^{5,7,8}. Justifica-se, então, a investigação aqui realizada, mesmo já tendo sido constatada em estudo anterior¹³ que não há ação antibacteriana desses fitoterápicos sobre bactérias orais associadas ao biofilme cariogênico.

Estudos têm se destinado à investigação de atividade antimicrobiana de produtos naturais contra microrganismos da cavidade oral^{13,15}. Entretanto, são poucos aqueles que referem o *Plectrants amboinicus*, *Conyza bonariensis* e *Cymbopogon citratus* como potenciais antibacterianos sobre *Streptococcus mutans*.

Para avaliar o padrão de clonagem e virulência de isolados clínicos de *Streptococcus mutans* ao realizarem a montagem do sistema de aderência, um grupo de pesquisadores¹⁶ consideraram como substrato o tubo de ensaio, em inclinação de 30°, utilizando como meio de cultura BHI acrescido de 1% de sacarose e incubação por 18 horas. Porém, mesmo mantendo o mesmo método de aderência ao vidro, analisando a atividade antiaderente da romã, outro grupo de pesquisadores² utilizaram como meio de cultura caldo Mueller Hinton acrescido de 5% de sacarose e incubação por 24.

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 30°.

Seguindo a recomendação de realizar incubação por 48 horas para melhor evidenciar a aderência ao vidro¹⁷, adotou-se o tempo de 48 horas para avaliação antiaderente na presente pesquisa.

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 desvantagens^{17,18}. 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 despendido 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 Espectrofotometria e avaliação visual da formação de película de adesão¹⁷.

Ponderando as limitações, o presente trabalho utilizou como método de avaliação a aderência bacteriana ao vidro com verificação visual da formação de película de adesão, neste caso corada com evidenciador de placa para melhor visualização, pois é um método válido, também empregado em outros estudos^{2,15,16}, menos oneroso e de fácil confecção, adequando-se às reais condições de infra-estrutura disponíveis para realização da presente pesquisa.

Outros estreptococos bucais, incluindo *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius* e possivelmente *Streptococcus gordonii*, também podem sintetizar polissacarídeos, mas apenas os estreptococos do grupo mutans apresentam aumento de colonização induzido pela sacarose^{4,5}. Por esse motivo, o *Streptococcus mutans* foi escolhido para avaliação de CIMA.

As células de *Streptococcus 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 37°C. Quando cultivados em ágar sangue em microaerofilia por 48 horas, as colônias de *Streptococcus mutans* apresentam-se brancas ou cinzas, circulares ou irregulares com 0,5 a 1,0 mm de diâmetro, tendendo a aderir na superfície do ágar¹⁷. Essas características correspondem às observações desta pesquisa quando

da identificação do microrganismo e avaliação de controle de contaminação.

Destaca-se que, independente de apresentar ou não atividade antimicrobiana, não se deve desconsiderar os efeitos dos fitoterápicos como inibidores de crescimento de outras espécies, ou ainda demais funções que possam desempenhar na terapêutica, atuando como agentes antiinflamatórios ou potencializando o efeito de outras drogas convencionais^{3,10,18,19}.

Portanto, mesmo não possuindo uma Concentração Inibitória Mínima ou uma Concentração Bactericida Mínima, como já evidenciado em outro estudo¹³, pode-se considerar que, com a metodologia adotada, as tinturas fitoterápicas de *Plectrantus amboinicus*, *Conyza bonariensis* e *Cymbopogon citratus* são efetivas no controle do biofilme formado por *Streptococcus mutans* sobre o vidro, com CIMA de 200µg/mL.

Diversas publicações relataram atividade antimicrobiana das plantas aqui avaliadas^{2,10,18,20}, 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 formulações⁷. Selecionou-se o veículo hidroalcoólico 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 indivíduos de menor poder aquisitivo.

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 formulação^{8,13}.

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

A clorexidina 0,12% é um potente anti-séptico, tendo sido amplamente estudada e empregada como controle positivo em trabalhos semelhantes a presente pesquisa, apresentando atividade antibacteriana e antiaderente^{2,21}, sendo, por esse motivo, também utilizada como controle positivo nesta pesquisa.

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 produto^{13,19,21}.

Mesmo não apresentando efeito antimicrobiano sobre os microrganismos testados em trabalho

anterior¹³, as tinturas de *P. amboinicus*, *C. bonariensis* e *C. citratus* podem se constituir em estratégias para a prevenção da cárie dentária, uma vez que promoveram inibição da adesão de *S. mutans* ao vidro, entretanto, são necessários mais 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 importantes para fornecer subsídios à realização de ensaios clínicos posteriores. Contudo, diante das limitações dos estudos

in vitro, estes resultados podem não corresponder aos reais comportamentos das tinturas *in vivo*, uma vez que não foram expostas às mesmas condições da cavidade oral^{17,18}.

CONCLUSÃO

As tinturas se mostraram efetivas como inibidoras da adesão de *S. mutans* ao vidro, com Concentração Inibitória Mínima de Aderência de 200µg/mL para todas as tinturas avaliadas.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Saúde. Projeto SB Brasil 2010. Condições de saúde bucal da população brasileira. Resultados Principais. Brasília, 2010.
- Pereira JV, Pereira MSV, Sampaio FC, Sampaio MCC, Alves PM, Araújo CRF, Higino JS. Efeito antibacteriano e antiaderente *in vitro* do extrato da *Punica granatum* Linn. sobre microrganismos do biofilme dental. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2006; 16(1):88-93.
- Jeon JG, Rosalen PL, Falsetta ML, Koo H. Natural products in caries research: current (limited) knowledge, challenges and future perspective. Caries Research. 2011; 45(3):243-263.
- Koo H, Falsetta ML, Klein MI. The exopolysaccharide matrix: a virulence determinant of cariogenic biofilm. Journal Dental Research. 2013; 92(12):1065-1073.
- Krzywociak W, Jurczak A, Kococielniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2014; 33(4):499-515.
- Huang R, Li M, Gregory RL. Bacterial interactions in dental biofilm. Virulence. 2011; 2(5):435-444.
- Salehi R, Savabi O, Kazemi M, Kamali S, Salehi AR, Eslami G, Tahmourespour A. Effects of *Lactobacillus reuteri*-derived biosurfactant on the gene expression profile of essential adhesion genes (*gtfB*, *gtfC* and *ftf*) of *Streptococcus mutans*. Advanced Biomedical Research. 2014; 3:169.
- Palombo EA. 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.
- Yunes RA, Pedrosa RC, Cechinel-Filho V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. Química Nova. 2001; 24(1):147-152.
- Oliveira RAG, Lima EO, Souza EL, Vieira WL, Freire KRL, Trajano VN, Lima IO, Silva-Filho RN. Interference of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng essential oil on the anti-*Candida* activity of some clinically used antifungals. Revista Brasileira de Farmacognosia. [online]. 2007; 17(2):186-190.
- Thabit RAS, Cheng XR, Tang X, Sun J, Shi YH, Le GW. Antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Conyza bonariensis* growing in Yemen. Pakistan journal of pharmaceutical sciences. 2015; 28(1):129.
- Christopher EE, Akpan E, Nyoh A. Ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf extract [J]. Chinese Journal of Natural Medicines. 2015; 13(5):321-337.
- Silva NB, 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. Contemporary Clinical Dentistry. 2012; 3:302-5.
- Cardoso SA N, Cavalcante TT, Araújo AX, Dos Santos HS, Albuquerque MR, Bandeira PN, Da Cunha RM, Cavada BS, Teixeira EH. Antimicrobial and antibiofilm action of Casbane Diterpene from *Croton nepetaefolius* against oral bacteria. Archives of oral biology. 2012; 57(5):550-555.
- 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 Clínica-Científica. 2010; 9(2):139-143.
- Kamiya RU, Napimoga MH, Hofling JF, Gonçalves RB. Frequency of four different mutacin genes in *Streptococcus mutans* genotypes isolated from caries-free and caries-active individuals. Journal of Medical Microbiology. 2005; 54:599-604.
- Barbieri DSV, Vicente VA; Fraiz FC, Lavoranti OJ, Svidzinski TIE, Pinheiro RL. Analysis of the *in vitro* adherence of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. Brazilian Journal of Microbiology. 2007; 38:624-631.
- Betoni JEC, Mantovani RP, Barbosa LN, Di Stasi LC, Fernandes Junior A. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2006; 101(4):387-390.
- Halibi, MF, Sheikh BY. Anti-Proliferative Effect and Phytochemical Analysis of *Cymbopogon citratus* Extract. BioMed Research International. 2014.

20. Almeida RBA, Akisue G, Cardoso LML, Junqueira JC, Jorge AOC. Antimicrobial activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) stapf on *Staphylococcus spp*, *Streptococcus mutans* and *Candida spp*. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2013; 15(4):474-482.
21. Innabi O, Lakhdar L, Bouziane A, Bensouda Y, Abougal R. Chlorhexidine alcohol base mouthrinse versus chlorhexidine formaldehyde base mouthrinse efficacy on plaque control: double blind, randomized clinical trials. Medicina Oral Patologia Oral y Cirurgia Bucal. 2013; 18(1):135-139.

Correspondência

Naiana Braga da Silva
Rua Francisco Chagas Almeida, 102 – Bancários –
CEP:58051-500
João Pessoa – PB
E-mail: neinabs@hotmail.com