

Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de dentífricos contendo óleo de orégano e alecrim**In vitro evaluation of the antimicrobial activity of denthyrics containing orégano and alecrim oil**

DOI:10.34117/bjdv5n7-156

Recebimento dos originais: 25/06/2019

Aceitação para publicação: 18/07/2019

Rachel Anne de Souza Alves

Formação acadêmica mais alta: graduandado curso de Farmácia

Instituição de atuação atual: Universidade Estadual de Londrina

Endereço completo: Rodovia Celso Garcia Cid - Pr 445 Km 380/ Campus Universitário - CEP 86.057-970 – Londrina, Paraná, Brasil.

E-mail: rachel.annealves@gmail.com

Ricardo Sérgio Couto Almeida

Formação acadêmica mais alta: Doutor

Instituição de atuação atual: Universidade Estadual de Londrina

Endereço completo: Departamento de Microbiologia, Rodovia Celso Garcia Cid - Pr 445 Km 380/ Campus Universitário - CEP 86.057-970 – Londrina, Paraná, Brasil.

E-mail: rikodonto@gmail.com

Daneysa Lahis Kalschne

Formação acadêmica mais alta: Doutora

Instituição de atuação atual: Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Endereço completo: Departamento de Alimentos, Bloco 1. Avenida Brasil, n. 4232, Bairro Parque Independência. Caixa postal 271, CEP 85884-000. Medianeira, Paraná, Brasil.

E-mail: daneysa@yahoo.com.br

Audrey Alesandra Stingham Garcia Lonni

Formação acadêmica mais alta: Doutora

Instituição de atuação atual: Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Londrina.

Endereço completo: Depto. de Ciências Farmacêuticas/ Centro de Ciências da Saúde/ Av. Robert Koch, nº 60 - Hospital Universitário - Vila Operária - CEP: 86038-350 - Londrina/Paraná. Fone: 43-3371-2475

E-mail: audreylonni@uol.com.br

RESUMO

A correta higiene bucal é essencial para a saúde, uma vez que, as patologias bucais constituem um grande problema de saúde pública, por sua alta prevalência e, por sua importância em termos de dor, desconforto e limitações funcionais e sociais que afetam a qualidade de vida, destacando-se a cárie, pois acomete o maior número de pessoas. Aliado a esse contexto, o interesse por produtos contendo substâncias naturais como princípio ativo

vem crescendo cada vez mais na odontologia. Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) apresenta potencial atividade antimicrobiana. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver formulação dentifrícia para uso adulto, de uso tópico, acrescida ou não da associação do óleo essencial de orégano e alecrim, bem como, determinar a atividade antibacteriana e farmacotécnica das formulações. Os óleos essenciais usados de forma isolada apresentaram melhores resultados do que quando associados, sendo que os melhores resultados foram obtidos com os dentifrícios contendo 0,5% (p/p) de OEA e 1,5% (p/p) de OEO. Espera-se que este produto possa se tornar uma alternativa eficaz e segura para a saúde bucal.

Palavras-Chave: *Formulação dentifrícia; Origanum vulgare; Rosmarinus officinalis.*

ABSTRACT

Correct oral hygiene is essential for health, since oral pathologies are a major public health problem because of their high prevalence and their importance in terms of pain, discomfort and functional and social limitations that affect the quality of life, especially caries, because it affects the largest number of people. Allied to this context, the interest for products containing natural substances as active principle is growing more and more in dentistry. Essential oil of oregano (*Origanum vulgare* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) presents potential antimicrobial activity. In this way, the objective of this work was to develop a dentifrice formulation for adult use, topical use, added or not of the association of the essential oil of oregano and rosemary, as well as to determine the antibacterial and pharmacotechnical activity of the formulations. The essential oils used alone showed better results than when associated, and the best results were obtained with dentifrices containing 0.5% (w / w) OEA and 1.5% (w / w) OEO. It is hoped that this product can become an effective and safe alternative to oral health.

Keywords: Dentifrice formulation; *Origanum vulgare*; *Rosmarinus officinalis*.

1. INTRODUÇÃO

A higiene bucal é parte integrante da saúde de um indivíduo e esta diretamente relacionada às condições de saneamento, alimentação, moradia, trabalho, educação, renda e acesso aos serviços de saúde e informação (TREVISAN, 2012). Por outro lado, a falta de higiene bucal, aliada a outros fatores, resulta em formação do biofilme, ou seja, colônia de micro-organismos responsáveis pelo aparecimento de afecções bucais, sobretudo cárie e doenças periodontais (SOARES, et al 2006).

Os dentifrícios são fundamentais para prevenir e melhorar a saúde bucal, além disso, proporcionam diversos benefícios, como, limpeza dental, hálito agradável, inibição da desmineralização do esmalte dentário, diminuição de sensibilidade e atividade antimicrobiana (TORRES, KUBO, ANIDO, 2010). Substâncias antimicrobianas sintéticas são inseridas nos cremes dentais, como digluconato de clorexidina e triclosan, por serem potenciais antimicrobianos, entretanto, podem causar dano à saúde a curto e em longo prazo,

tanto na cavidade oral como sistemicamente e se tornaram objetos de investigação científica em ensaios clínicos (TATARAZAKO, et al, 2004; SOARES, et al 2006; TORRES, KUBO, ANIDO, 2010; PAPAIOANNOU et al., 2016).

Atualmente há um intenso debate na comunidade científica sobre os perigos do uso indiscriminado do triclosan e há uma tendência mundial em serem eliminados do mercado. Muitas plantas têm sido utilizadas em razão de suas características antimicrobianas, devido aos compostos sintetizados no metabolismo secundário das mesmas. Destacam-se os óleos essenciais, que além de conferir aroma e sabor característico às plantas, estão relacionados à atração de polinizadores, proteção contra insetos e diversas funções necessárias à sobrevivência da planta, tendo como principais substâncias ativas, compostos fenólicos e os terpenos (SANTOS et al., 2004).

Óleo essencial de orégano (OEO) é extraído principalmente das folhas de *Origanum vulgare* L., pertencente à família Labiatae, apresenta propriedades como antioxidante, antibacteriana, antifúngica, anticancerígena, entre outras (CHUN, 2005; CHOU et al., 2010; BETANCOURT et al., 2012; GAUTAM, MANTHA, MITTAL, 2014). Os compostos fenólicos como o carvacrol e timol são responsáveis pelas propriedades antimicrobianas dessa erva, por serem hidrofóbicos possuem como sítio de ação a membrana celular microbiana, e ao modificarem sua estrutura, aumenta-se sua permeabilidade de forma que ocorra extravasamento de íons e outros constituintes, resultando na lise celular (BASE, 2008; SOUZA et al., 2013).

Óleo essencial de alecrim (OEA), extraído da planta *Rosmarinus officinalis*, pertencem também à família Lamiaceae, é utilizado mundialmente como condimento de inúmeros alimentos e possui várias indicações farmacêuticas, como potencial atividade antimicrobiana (CARVALHO JUNIOR, 2004). Seu óleo essencial é constituído por hidrocarbonetos monoterpênicos, ésteres terpênicos, linalol, verbinol, terpineol, 3- octanona e acetato de isobornila, dentre outros compostos (RIBEIRO et al., 2012).

2. MATERIAS E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

OEO e OEA foram adquiridos da empresa Ferquima Indústria e Comércio Ltda. (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil).

2.2 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES

Foram desenvolvidas nove formulações semissólidas para uso adulto como dentifrício, acrescidas ou não da associação de OEA e OEO, cujas associações, em partes iguais, nas respectivas concentrações finais: 0,5% (p/p), 1,0% (p/p) e 1,5% (p/p). Formulação base (controle) foi composta de fluoreto de sódio (1.000 ppm), sacarina sódica, benzoato de sódio, mentol, sorbitol, glicerina, carboximetilcelulose, dióxido de silício, lauril sulfato de sódio e água destilada. Como padrões, foram desenvolvidas duas formulações contendo 0,10% (p/p) triclosan (FT) e 0,12% (p/p) digluconato de clorexidine (FCL).

2.3 CARACTERIZAÇÃO FARMACOTÉCNICA DAS FORMULAÇÕES

As formulações foram avaliadas quanto aos ensaios de pré-estabilidade (Brasil, 2004), organolépticos (aspecto, cor, odor e sabor) e físico-químicos (pH, densidade e viscosidade) de acordo com o Guia de Controle de Qualidade para Cosméticos (BRASIL, 2007). Os testes foram realizados em triplicata para cada formulação e as médias calculadas (Brasil, 2008).

2.3.1 Ensaios de pré-estabilidade

As amostras foram submetidas ao teste da centrifugação, em triplicata, onde 5 g de cada formulação foi acondicionada em tubo de ensaio cônico, graduado e centrifugadas (Centrífuga Baby I Fanem 206-BL, Brasil) a 3200 rpm por 30 min à temperatura ambiente, para detectar visíveis modificações ou instabilidades como separação de fases, formação de sedimento compacto e coalescência. Em seguida, foram feitas análises visuais e classificada como normal ou com separação de fases.

2.3.2 Ensaios organolépticos

Foram avaliadas as características da formulação: aspecto, cor, odor e sabor, em triplicata (BRASIL, 2008). O aspecto das formulações ocorreu por meio de observação macroscopicamente após 24 h em repouso. Procurou-se identificar se as amostras em estudo tiveram alterações do tipo separação de fases, precipitação e turvação. A análise de cor das formulações, em triplicata, foi realizada por colorimetria, considerando a avaliação visual, sob luz branca. A análise visual da cor da amostra realizada com 1,5 g da amostra acondicionada em vidro relógio, colocada sobre fundo preto. Logo após, fotografou-se os

resultados comparados. O odor e sabor das amostras foram analisados, diretamente por meio do olfato e paladar, respectivamente.

2.3.3 Ensaios Físico-Químicos

Realizou-se a identificação de algumas características físico-químicas da formulação, em triplicata: valor de pH, viscosidade e densidade (BRASIL, 2008). O valor de pH foi medido por meio de pHmetro digital (GEHAKA, BRASIL) na temperatura ambiente ($25 \pm 5^\circ\text{C}$), calibrado com solução tampão (pH 4,0 e 7,0). Para ambas as determinações, o eletrodo foi inserido diretamente na amostra. Determinou-se a viscosidade por amostra padrão e por amostra testes em rotações por minuto (rpm) utilizando um viscosímetro rotacional, série MVD-8 (MARTE, BRASIL). Avaliou-se a densidade fazendo uso de picnômetro de vidro.

2.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA IN VITRO DAS FORMULAÇÕES

2.4.1 Cultivo dos microrganismos

Utilizou-se para os testes as bactérias *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Streptococcus mutans* UA159 e *Escherichia coli* ATCC 25922. As placas contendo estes microrganismos permaneceram a uma temperatura de 4°C a 8°C em meio BHI ágar (Brainheartinfusion Ágar). Para a realização dos testes, coletou-se cinco colônias de cada placa de microrganismo com alça descartável em ambiente estéril que foram imersas e dispersas em falcon de 50 mL contendo 10 mL de BHI-caldo (Brainheartinfusionbroth). Em seguida, incubou-se em um shaker por 16 horas com temperatura constante de 37°C a 150 rpm, os falcons dos microrganismos *E. faecalis* e *E. coli*. Já o falcon do microrganismo *S. mutans* foi incubado por 16 horas em estufa à temperatura constante de 37°C com 5% de CO_2 sem agitação (CLSI, 2012).

2.4.2 Teste antimicrobiano de ágar difusão

Após 16 horas de incubação, lavou-se os inóculos, por três vezes com tampão fosfatosalino (PBS) e preparou-se uma suspensão bacteriana diluída em PBS com turbidez semelhante à da escala de McFarland 0,5 em tubo de vidro transparente, em ambiente estéril, totalizando $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Logo após, depositou-se uma fina camada de Ágar bacteriológico (Kasvi) no fundo da placa, seguida por uma camada de 20 mL BHI ágar (1%) contendo 150 μL da suspensão dos microrganismos avaliados, depositados sobre o ágar

bacteriológico. Perfurou-se essa mesma camada de BHI-ágar 4 vezes para a confecção de poços com uma pipeta de mil microlitros, após perfurados, removeu-se os tampões de cada poço, tendo assim como fundo a camada de ágar bacteriológico. Em cada poço foi adicionado 0,07 g de cada formulação para cada microrganismo. Após 24 horas, mediu-se os halos de inibição com o auxílio de um paquímetro eletrônico. E por fim realizou-se a subtração do halo de inibição pelo poço. Os resultados foram expressos em milímetros.

2.5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR DAS FORMULAÇÕES

As amostras foram embaladas em bisnagas plásticas específicas para dentifrícios, bem vedados, e o volume acondicionado do produto corresponde a um terço da capacidade da embalagem, para possíveis trocas gasosas. Armazenaram-se as amostras em temperaturas alternadas, em intervalos regulares de tempo, com ciclos de 24 h a 4 ± 2 °C e 24 h a 40 ± 2 °C com umidade relativa de $75\% \pm 5\%$, e também à temperatura ambiente, sendo analisadas no tempo zero e após 15 dias os seguintes parâmetros: aparência, cor, odor, pH, viscosidade e atividade antimicrobiana (BRASIL, 2004).

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os testes foram estatisticamente comparados utilizando análise de variância (ANOVA). Identificou-se as diferenças individuais entre as médias por meio teste de Tukey. Em todos os casos, um nível de significância de $p < 0,05$ foi aceito para denotar significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES

Os dentifrícios bucais foram desenvolvidos com a finalidade de diminuir a penetração dos microrganismos viáveis na corrente sanguínea, prevenindo possíveis doenças sistêmicas, como a endocardite, causadas por má higienização bucal, mas, sobretudo uma alternativa natural (ZANIN et al, 2007), uma vez que, digluconato de clorexidina e triclosan, se tornaram objetos de investigação científica em ensaios clínicos (TATARAZAKO, et al, 2004; PAPAIOANNOU et al., 2016).

O fluoreto de sódio foi utilizado devido à ação protetora do flúor, que além de remineralizar o esmalte dental, interfere no metabolismo e crescimento de bactérias produtoras de ácido no biofilme dental por inibir a formação de polissacarídeos que

promovem a adesão de bactérias à superfície do esmalte, sendo um dos fatores muito importantes de ação tópica na prevenção de cáries (FUKUSHIMA et al., 2000). Segundo revisão sistemática, apesar da duvidosa evidência sobre o uso de dentifrícios fluoretados estar associado ao aumento do risco de fluorose, é recomendado uso de dentifrício com concentração inferior a 1000 ppm (WONG et al., 2010). E, segundo o Inmetro (2018), para se obter registro na Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Cosméticos a concentração de flúor deve ser, no mínimo, 1.000 ppm e, no máximo, de 1.500 ppm. Desta forma, foram desenvolvidas formulações para uso adulto contendo 1000 ppm de fluoreto de sódio.

Na formulação dos dentifrícios foi utilizada também sacarina sódica, um adoçante que fornece um sabor agradável ao produto final (LIBIN, 2002). O dióxido de silício foi utilizado como abrasivo, sendo responsável pela limpeza adequada dos dentes, atua durante a escovação aumentando o atrito com os dentes, raspando o biofilme do dente sem danificá-lo. O lauril sulfato de sódio auxilia a limpeza com seu poder tensoativos e espumógeno. Glicerina e sorbitolcumprem função umectante, que impede a secagem da pasta, também responsável por melhorar o aspecto e a consistência do produto. Carboximetilceluloseé um polímero espessante, utilizada como aglutinante, para os componentes líquidos e sólidos não se separem e auxiliar na manutenção da consistência do dentifrício. O benzoato de sódio tem ação preservante. E por fim, o mentol promove ação refrescante e aroma agradável (RIBEIRO, 2010).

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES

As formulações foram analisadas e caracterizadas em suas diferentes propriedades. Quanto ao aspecto morfológico e centrifugação, todas as amostras permaneceram homogêneas em todas as condições, repouso após 24 horas e após a centrifugação a 2.800 rpm. Desta forma, macroscopicamente não foi observada nenhuma modificação ou instabilidade como separação de fases, cremeação e coalescência em nenhuma das amostras contendo as diferentes concentrações de OEA e OEO, bem como na FB, que não possui o ativo.

Quanto à cor, todas as amostras apresentaram cor branca, característica de dentifrícios ausentes de corantes, mantendo o mesmo aspecto dos padrões. Na análise do odor verificou-se o aroma característico dos respectivos óleos essenciais e do mentol, sendo o odor mais intenso quanto maior a concentração de óleos. Segundo o Inmetro (2018), o pH é uma característica muito importante nos dentifrícios e, de acordo com a norma

internacional utilizada, ele deve estar dentro de uma faixa, considerada de segurança, que vai de 4,5 a 10,5. Para o presente trabalho foi estabelecido uma faixa de pH de 6,50 a 7,80, respeitando a fisiologia bucal. Observou-se que os valores de pH de todas as formulações permaneceram dentro da faixa de segurança determinada, valores estes, essenciais para a manutenção adequada da saúde bucal.

Os valores de densidade encontrados permaneceram na faixa de 10,00 g/cm³ de todas as formulações.

3.2.1 Análise da viscosidade das formulações

Os estudos de reometria identificaram que todas as formulações apresentaram comportamento não Newtoniano, entretanto será demonstrada a reologia de FA0.5 e FO1.5 (Fig. 1A e 1B), sendo que a viscosidade aparente do fluido diminuiu com a tensão de cisalhamento aplicada, logo é classificado como pseudoplástico. Essa característica é considerada ideal, pois permite ao usuário uma boa retenção da amostra na escova dental, porém quando aplicado na escovação, encontra-se espalhabilidade adequada.

As figuras 2A e 2B de FA0.5 e FO1.5, respectivamente, mostram os resultados da viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento das formulações. É possível observar através dos resultados obtidos que a viscosidade das amostras contendo OEO mantêm um padrão nas diferentes concentrações e formulações, e as formulações base apresentaram valores de viscosidade aparente inferior as amostras acrescidas com OEO.

[Figura 1A]

[Figura 1B]

[Figura 2A]

[Figura 2B]

3.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS FORMULAÇÕES

No teste antimicrobiano foi utilizada *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Streptococcus mutans* UA159 e *Escherichia coli* ATCC 25922 com resultados em milímetros, conforme Tab. 1

[Tabela 1]

Analisando a atividade antibacteriana das formulações, quando testadas frente à *S. mutans* UA159 e *E. faecalis* ATCC 29212 (Tab. 1), os halos de inibição das formulações contendo OEA, onde FA0.5 superou o halo de inibição formado em relação a FA1.0 e FA1.5, ou seja, a menor concentração de OEA apresentou melhor resultado. Comportamento diferente ocorreu para as formulações contendo OEO, onde FO1.5 foi considerada estatisticamente relevante ($p < 0,05$) em comparação ao FO0.5 e FO1.0, ou seja, a atividade aumentou conforme o aumento da concentração de OEO.

Considerando a grande diversidade de microrganismos que colonizam a microbiota bucal e os relatos na literatura de que a placa bacteriana pode servir de reservatório permanente de microrganismos, ocasionando infecções à distancia, Rossi e colaboradores relatam que *E. coli* também é etiologicamente associado com lesões de cárie (ROSSI et al, 2014). Nos testes realizados com *E. coli* ATCC 25922, como pode ser visto na Tab. 1, não foi possível observar formação de halos de inibição em FA0.5, FA1.0 e FA1.5, evidenciando que OEA não foi capaz de inibir *E. coli*. Já em FO0,5, FO1,0 e FO1,5 os halos de inibição aumentam conforme o aumento da concentração de OEO, demonstrando a atividade antimicrobiana de OEO frente à *E. coli*.

As formulações contendo as associações de OEA e OEO em partes iguais não mostraram resultados satisfatórios, o que sugere que não houve sinergia entre os princípios ativos de ambos os óleos.

Em relação aos padrões FT (triclosan) e FCL (digluconato de clorexidina), ocorreu um perfil estatisticamente comparável ($p < 0,05$) com as formulações FA0.5 e FO1.5, destacando que FT apresentou maior inibição do que FCL. Em relação a *E. coli*, FCL também não foi capaz de inibir. Outro fator importante é o fato das formulações testadas conterem como antimicrobiano um princípio ativo natural como substituto de ativos sintéticos.

Dentre os componentes do óleo essencial de orégano, duas substâncias se destacam como princípio ativo, carvacrol e timol, e são consideradas responsáveis pela atividade antimicrobiana em questão (SILVA et al, 2010; BETANCOURT et al, 2012). Possui ainda, flavonóides, ácido rosmarínico, triterpenos (e.g. ácido oleanólico, ursólico, 4-terpineol, g-terpineno), esteróis, vitamina A, vitamina C, cálcio, magnésio, zinco, ferro, potássio, cobre, boro e manganês (CARREIRO, VASCONCELOS, AYOUB 2009). Sugere-se a importância destes compostos fitoquímicos na inibição da enzima glicosiltransferase, responsável pela formação de dextranas, as quais permitem a adesão de bactérias como o *S. mutans*, principal

formador de cárie dental. Esses compostos são hidrofóbicos e o seu sítio de ação é a membrana celular microbiana, acumulam-se na bicamada lipídica causando desarranjo na função e na estrutura da membrana e penetram a célula bacteriana, exercendo atividade inibitória no citoplasma celular, provocando lise e liberação do ATP intracelular. Além disso, há evidências de que os precursores presentes em menor quantidade que os compostos fenólicos, como γ -terpineno e p-cimeno, interferem na atividade antimicrobiana por produzirem efeito sinérgico entre os demais componentes, portanto a presença de outros componentes em baixas concentrações pode provocar interações sinérgicas, aditivas ou antagônicas (SILVA et al, 2010).

3.4 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR DAS FORMULAÇÕES

Os resultados para estabilidade preliminar das formulações foram avaliadas no tempo zero e após 15 dias (BRASIL, 2004).

A aparência, cor e odor das amostras não apresentaram mudanças perceptíveis durante o período de estudo, bem como, não ocorreu separação de fases, se mantendo estável após o período de análises.

Os valores de pH obtidos por potenciometria direta das formulações desenvolvidas sofreram ligeiro aumento, encontrando-se no valor médio de 7,71 para todas as formulações, apresentando pequena diferença significativa ($p < 0,05$) entre as formulações, mas considera-se aceitável por estar dentro da faixa estabelecida para uso como dentifrício.

Os valores de densidade das formulações mostraram que as formulações não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre os resultados obtidos no tempo zero e após 15 dias da avaliação de estabilidade preliminar, mantendo a densidade característica e esperada.

4. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, concluiu-se que a partir do óleo essencial de orégano e alecrim, foi possível obter dentifrícios para uso adulto, cujos ativos apresentaram importante atividade antibacteriana, quando comparado com os padrões.

Todas as formulações apresentaram-se estáveis e com as características organolépticas e físico-químicas de acordo com o esperado. Observou-se que os óleos essenciais usados de forma isolada apresentaram melhores resultados do que quando associados em partes iguais, sendo que os melhores resultados foram obtidos com os

dentifrícios contendo 0,5% (p/p) de OEA e 1,5% (p/p) de OEO frente principalmente ao *S. mutans* e aos padrões.

Embora as formulações obtidas tenham apresentado características adequadas ao uso, mais estudos são necessários para verificar a sua eficácia, segurança e inocuidade, uma vez que este produto pode se tornar uma alternativa eficaz e mais segura para a saúde bucal.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi apoiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Agradecemos o Laboratório de Micologia Médica e a indústria DentalClean pelo apoio técnico e colaboração.

REFERÊNCIAS

APPEL, G.; RÉUS, M. Formulações aplicadas à odontologia. São Paulo: RCN editora, 2ª ed., 2005.

BASE, K. H. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr Pharm. Design*, v. 14, n. 29, p. 3106-3119, 2008.

BETANCOURT, L. PHANDANAUVONG, V., PATIÑO, R., ARIZA-NIETO, C., AFANADOR TÉLLEZ G. Composition and bactericidal activity against beneficial and pathogenic bacteria of essential oils from four chemotypes of *Origanum* and *Lippia* genus. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 59, n. 1, p. 21-31, 2012.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de Produtos Cosméticos. Brasília: ANVISA, 2004.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos. Brasília: ANVISA, 2ª ed., 2008.

CARVALHO JUNIOR, R. N. Obtenção de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) por extração supercrítica: determinação do rendimento global, de parâmetros cinéticos e de equilíbrio e outras variáveis do processo. Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

CARREIRO, D. M.; VASCONCELOS L.; AYOUB, M.E. Síndrome Fúngica, Uma epidemia oculta. – 1º Edição – São Paulo, 2009.

CHOU T.H.; DING H.Y.; HUNG W.H.; LIANG C.H. Exp. Dermatol. v. 19, p. 742, 2010.

CHUN, S. S. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. Process Biochemistry, v. 40, n. 2, p. 809-816, 2005.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute): Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard, M02-A11. 11th edition. Wayne, PA, USA: CLSI; 2012.

FUKUSHIMA, R.; GRANJEIRO, J. M.; TAGA, E. M.; BUZALAF, M. A. R. Cinética do flúor na saliva de adultos e crianças após o uso de dentifrícios fluoretados. Revista Faculdade Odontológica Bauru, v. 8, p. 45-50, 2000.

GAUTAM, N.; MANTHA, A. K.; MITTAL, S. Essential oils and their constituents as anticancer agents: a mechanistic view. BioMed Research International, p. 1-23, v. 2014, 2014.

INMETRO. Pasta de Dente (Uso Adulto e Uso Infantil). Acesso em 25 de maio de 2018. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/pastaDente.asp>

LIBIN, B. M. Antiplaque mouthrinse. United States US 6440395, 2002.

PAPAIOANNOU, W.; VASSILOPOULOS, S.; VROTSOS, I.; MARGARITIS, V.; PANIS, V. A comparison of a new alcohol-free 0.2% chlorhexidine oral rinse to an established 0.2% chlorhexidine rinse with alcohol for the control of dental plaque accumulation. International Journal of Dental, v. 14, n. 4, p. 272-277, v. 43, n. 2, 2016.

RIBEIRO, C. J. Cosmetologia Aplicada a Dermocosmética (2ª.ed). São Paulo: Ed. Pharmabooks, 2010.

RIBEIRO, D. S.; MELO, D. B.; GUIMARÃES, A. G.; VELOZO, E. S. Avaliação do óleo essencial de alecrim como modulador da resistência bacteriana. Semina: Ciências Agrárias, v. 33, n. 2, p. 687-696, 2012.

ROSSI, A.; FERREIRA, D. C. A.; SILVA, R. A. B.; QUEIROZ, A. M.; SILVA, L. A. B.; NELSON-FILHO, P. Antimicrobial Activity of Toothpastes Containing Natural Extracts, Chlorhexidine or Triclosan. Brazilian Dental Journal, v. 25, n. 3, p. 186-190, 2014.

SANTOS, A. S.; ALVES, S. M.; FIGUEIREDO, F. J. C.; ROCHA NETO, O. G. Descrição de sistema e métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. Comunicado Técnico-Embrapa, Belém, v. 99, n. 1, p. 1-6, 2004.

SILVA, J. P. L.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; PEREZ, D. V.; FRANCO, B. D. G. M. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella* Enteritidis. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 30, n. 1, p. 136-141, 2010.

SOARES, D.G.D.S.; OLIVEIRA, C.B.D.; LEAL, C. et al. Susceptibilidade in vitro de bactérias bucais a tinturas fitoterápicas. Revista Odonto Ciência (Journal of Dental Science). v. 21, n. 53, p. 232-237, 2006.

SOUZA, E. L. et al. Influence of carvacrol and thymol on the physiological attributes, enterotoxin production and surface characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. Brazilian Journal of Microbiology, v. 44, n. 1, p. 29-35, 2013.

TATARAZAKO, N.; ISHIBASHI, H.; TESHIMA, K.; KISHI, K.; ARIZONO, K. Effect of Triclosan on Various Aquatic Organisms. Environmental Sciences v. 11, n. 2, p. 133-140, 2004.

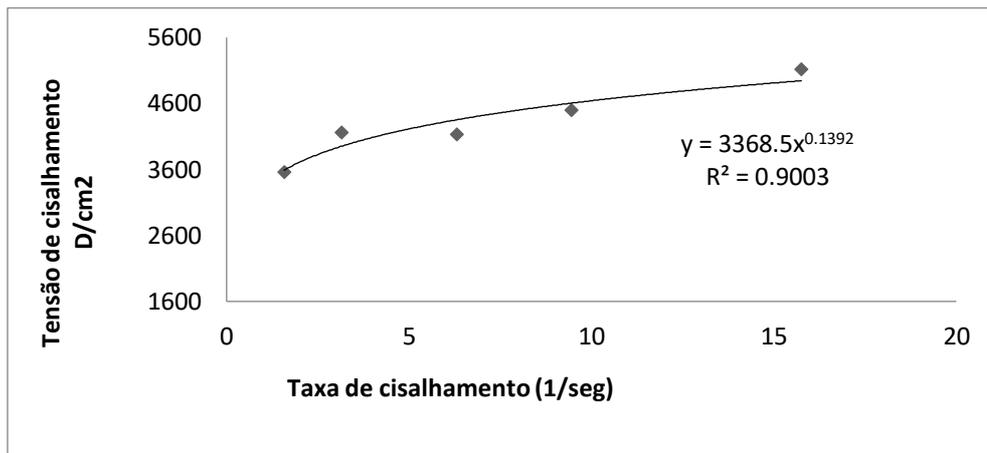
TORRES, C.R.G.; KUBO, C.H.; ANIDO, A.A. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na Odontologia. Brazilian Dental Science, v. 3, n. 2, 2010.

TREVISAN, M. C. Saúde bucal como temática para um ensino de química contextualizado. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, p.16, 2012.

WONG, M. C.; GLENNY, A. M.; TSANG, B. W.; LO, E. C.; WORTHINGTON, H. V.; MARINHO, V. C. Topical fluoride as a cause of dental fluorosis in children. Cochrane Database of Systematic Reviews, v. 20, n. 1, 2010.

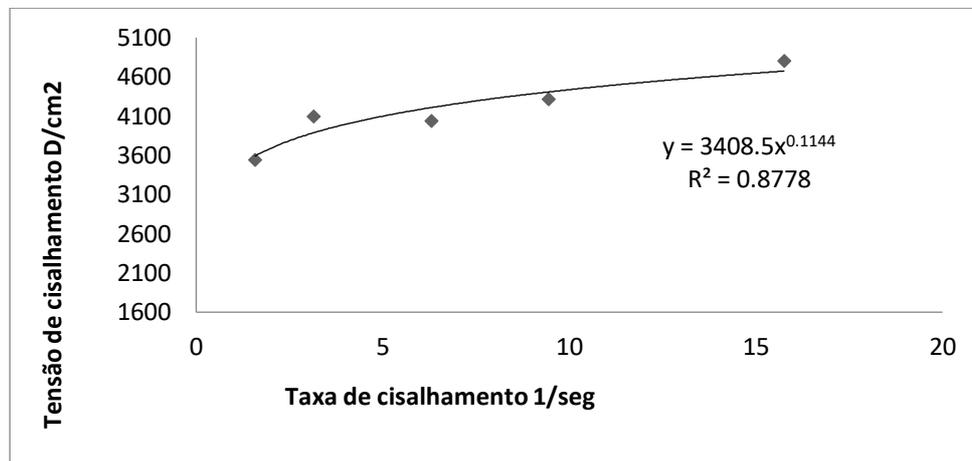
ZANIN, S. M. W.; MIGUEL, M. D.; BARREIRA, S. M. W.; NAKASHIMA, T.; CURY, C. D.; COSTA, C. K. Enxaguatório bucal: principais ativos e desenvolvimento de FÓRMULA contendo extrato hidroalcoólico de *Salvia officinalis* L. Visão Acadêmica, v. 8, n. 1, p. 20-28, 2007.

Figura 1A - Reograma da formulação contendo 0,5% (p/p) de óleo essencial de alecrim (FA0.5).



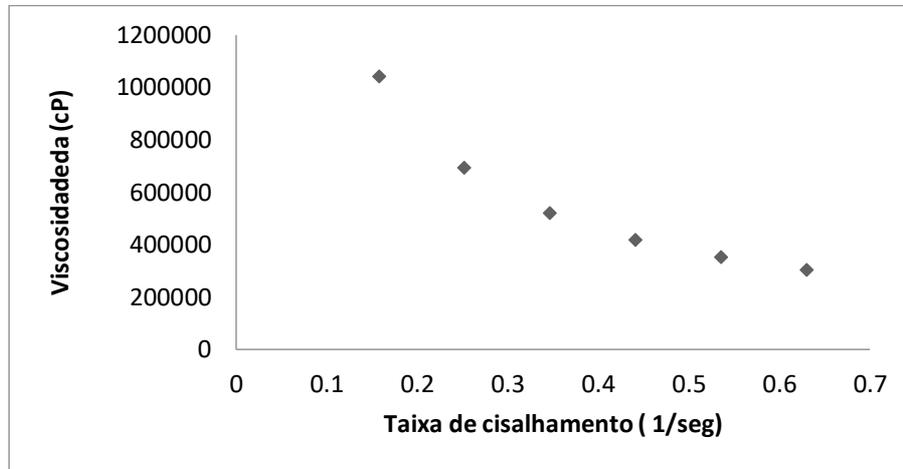
Fonte: Do Autor.

Figura 1B: Reograma da formulação contendo 1,5% (p/p) de óleo essencial de orégano (FO1.5).



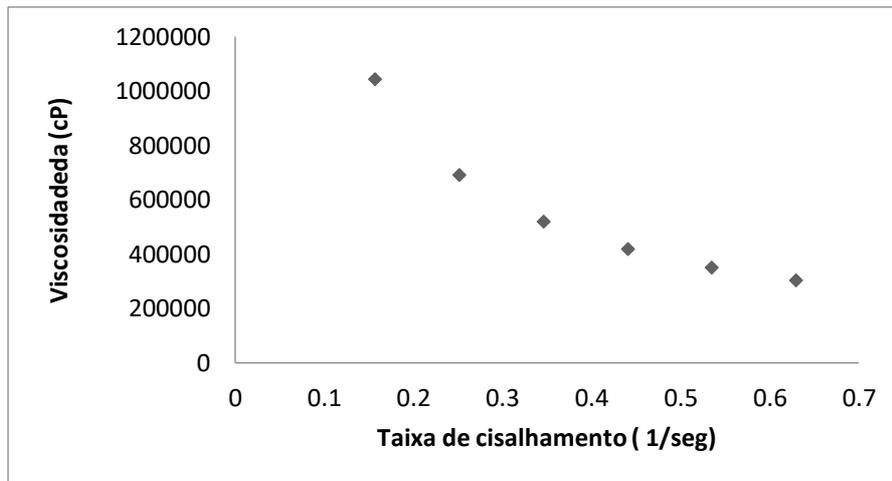
Fonte: Do Autor.

Figura 2A - Viscosidade aparente versus taxa de cisalhamento da formulação contendo 0,5% (p/p) de óleo essencial de alecrim (FA0.5).



Fonte: Do Autor.

Figura 2B - Viscosidade aparente versus taxa de cisalhamento da formulação contendo 1,5% (p/p) de óleo essencial de orégano (FO1.5).



Fonte: Do Autor.

Tabela 1 – Determinação da atividade antibacteriana através do halo de inibição das formulações dentifrícias através do teste de ágar difusão frente à *S. mutans*, *E. faecalis* e *E. coli*, sendo formulação com OEA (FA0.5, FA1.0, FA1.5), formulação com OEO (FO0.5, FO1.0, FO1.5) e associação em partes iguais de OEA e OEO (FAO0.5, FAO1.0, FAO1.5). Formulações padrões contendo triclosan (FT) e digluconato de clorexidine (FCL).

Form.	Halo de inibição (mm)										
	FT	FCL	FA 0.5	FA 1.0	FA 1.5	FO 0.5	FO 1.0	FO 1.5	FAO 0.5	FAO 1.0	FAO 1.5
<i>S. mutans</i>	22,57 ±0,3	18,63 ±0,4	22,14 ±0,2	21,29 ±0,5	22,10 ±0,1	19,51 ±0,2	19,56 ±0,5	24,12 ±0,1	18,73 ±0,2	18,41 ±0,4	17,96 ±0,1
<i>E. faecalis</i>	25,99 ±0,1	24,22 ±0,4	24,26 ±0,2	22,13 ±0,5	22,88 ±0,3	18,71 ±0,2	19,36 ±0,6	23,75 ±0,1	18,01 ±0,4	17,91 ±0,3	18,30 ±0,5
<i>E. coli</i>	24,86 ±0,2	*	*	*	*	14,19 ±0,6	16,44 ±0,4	19,24 ±0,3	11,53 ±0,1	11,46 ±0,4	13,05 ±0,2

*Não houve halo de inibição.