

Potencial Antimicrobiano dos Antissépticos de Uso Popular Anapyon[®], Água Rabelo[®] e Malvatricin[®] sobre Microrganismos do Meio Ambiente Oral

Antimicrobial Potential of the Popular Antiseptics Anapyon[®], Água Rabelo[®] and Malvatricin[®] against Oral Microorganisms

Dmitry José de Santana SARMENTO¹, Barbara Vanessa de Brito MONTEIRO¹,
Maria Celeste Nunes de MELO², Kenio Costa de LIMA³

¹ Alunos do Programa de Pós-graduação em Patologia Oral da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal/RN, Brasil.

² Professora do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal/RN, Brasil.

³ Professor Doutor do Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal/RN, Brasil

RESUMO

Objetivo: Verificar, “in vitro”, o potencial antimicrobiano do Anapyon[®], da Água Rabelo[®] e do Malvatricin[®] sobre microrganismos presentes na cavidade oral.

Método: Para realização do experimento, utilizou-se o protocolo sequenciado durante quatro dias que avaliou, através da medida da densidade óptica, o potencial antimicrobiano dos fármacos nos microrganismos (*Staphylococcus aureus*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e *Candida albicans*), em suas formas planctônicas, apenas o Malvatricin[®] foi avaliado sobre as formas de biofilme por ser o único fármaco que apresentou resultados satisfatórios sobre as formas planctônicas. O estudo adotou como controle negativo a água destilada e controle positivo a Clorexidina[®]. Os resultados obtidos foram submetidos a uma análise estatística com os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney.

Resultados: Observou-se, através da medida da densidade óptica, que apenas o Malvatricin[®] apresentou bons resultados na forma planctônica, sendo estes semelhantes ao controle positivo (clorexidina), considerado padrão nos ensaios antimicrobianos em Odontologia. Os resultados do Malvatricin[®] foram estatisticamente melhores quando comparados aos demais fármacos (Anapyon[®], Água Rabelo[®]) e ao controle negativo. Este resultado foi semelhante para todos os microrganismos estudados: *Staphylococcus aureus* ($p=0,002$), *Candida tropicalis* ($p=0,002$), *Candida parapsilosis* ($p=0,001$) e *Candida albicans* ($p<0,001$). Desta forma, apenas o Malvatricin[®] foi testado para o microrganismo arranjado em biofilme. Observou-se, então, que para a *C.albicans* e para o *S. aureus*, houve diferença significativa entre clorexidina e Malvatricin[®] ($p<0,05$), com melhores resultados para o clorexidina. Para *C. tropicalis*, o Malvatricin[®] diferiu significativamente ($p<0,05$) da água destilada. Em relação a *C.parapsilosis*, nenhuma diferença foi observada em relação ao controle negativo ($p=0,468$).

Conclusão: Apesar de alguns fármacos alternativos serem tidos como antimicrobianos, tais propriedades sobre células planctônicas e, principalmente, sobre biofilme foram observadas apenas para o Malvatricin[®].

ABSTRACT

Objective: To evaluate in vitro the antimicrobial potential of Anapyon[®], Água Rabelo and Malvatricin[®] against oral microorganisms.

Method: The experiment used a four-day sequential protocol that evaluated by optical density measurements the antimicrobial potential of these products against *Staphylococcus aureus*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* and *Candida albicans* in their planktonic forms. Only Malvatricin[®] was also evaluated against microbial biofilms because it was the only one to produce satisfactory results against the planktonic forms. Distilled water was used as negative control and Chlorhexidine[®] as positive control. The data were analyzed statistically by the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests.

Results: According to the optical density readings, only Malvatricin[®] was effective against the planktonic microorganisms and its results were similar to those of the positive control (Chlorhexidine), which is the gold standard antimicrobial agent in dental research. Malvatricin[®] presented significantly higher efficacy than the other antiseptics (Anapyon[®] and Água Rabelo[®]) and the negative control, and this result was similar for all tested microorganisms: *S. aureus* ($p=0.002$), *C. tropicalis* ($p=0.002$), *C. parapsilosis* ($p=0.001$) and *C. albicans* ($p<0.001$). For this reason, only Malvatricin[®] was evaluated against the microorganisms arranged as biofilms. Chlorhexidine presented significantly better results ($p<0.05$) than Malvatricin[®] against *C. albicans* and *S. aureus*. When tested against *C. tropicalis*, Malvatricin[®] differed significantly ($p<0.05$) from distilled water, while against *C. parapsilosis* no significant difference ($p=0.468$) was observed in comparison with the negative control.

Conclusion: Although some pharmaceutical products being considered anti-microbial, such properties against planktonic cells and especially the biofilms were observed only for Malvatricin[®].

DESCRITORES

Biofilmes; Bactérias; Fungos; Fitoterapia; Preparações Farmacêuticas.

KEY-WORDS

Biofilms; Bacteria; Fungi; Phytotherapy; Pharmaceutical Preparations.

INTRODUÇÃO

O termo biofilme é usado para descrever comunidades de microrganismos ligados a uma superfície, espacialmente organizadas em uma estrutura tridimensional e incluídas em uma matriz de material extracelular, derivada do metabolismo das células e do meio ambiente¹. A formação do biofilme dentário ocorre pela fixação de bactérias sobre as superfícies dentárias. Inicialmente é composto por microrganismos gram-positivos que, posteriormente, são sucedidos por gram-negativos. Dentre os microrganismos iniciais, podemos citar os *Streptococcus mitis*, *S. sanguinis* e *S. oralis*. Os mais incidentes em um biofilme maduro, sobretudo em ambiente subgingival, são *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter* sp., *Capnocytophaga* sp., *Eikenella corrodens* e *Fusobacterium nucleatum*. Em muitos biofilmes orais pode-se ainda encontrar bactérias como *Staphylococcus aureus*, bem como espécies de *Candida* sp.¹⁻³.

Pela importância do biofilme e as dificuldades de manter os indivíduos motivados para realizar uma adequada limpeza da cavidade bucal, com o objetivo primário em termos de saúde bucal que é controlar o acúmulo de microrganismos sobre as estruturas dentárias, é válido e necessário associar aos procedimentos mecânicos também métodos químicos para o controle dos microrganismos do biofilme dentário⁴.

Atualmente, nota-se aumento do interesse por terapias alternativas. Isto se deve principalmente à ineficácia de alguns produtos sintéticos, ao alto custo dos medicamentos alopáticos e à busca da população por tratamentos menos agressivos ao organismo humano, como é o caso do uso de produtos naturais^{5,6}. Substâncias fitoterápicas ou alternativas vêm sendo utilizadas na Odontologia e, para tanto, as mesmas devem apresentar compatibilidade com os tecidos vivos. Logo, há a necessidade de estudá-las “in vitro”. O crescimento mundial desses produtos como potenciais agentes preventivos e curativos tem estimulado a avaliação dos extratos de plantas e de fármacos alternativos (muitos com extratos de plantas medicinais em sua composição) para o uso na Odontologia como agentes que impeçam a formação ou desalojem o biofilme dentário e, conseqüentemente, possam prevenir e tratar afecções bucais^{7,8}.

Os fármacos Anapyon®, Água Rabelo® e Malvatricin® são considerados produtos alternativos. Alguns apresentam extratos de plantas em sua composição como é o caso da Água Rabelo® que possui como princípio ativo o Eucaliptol, a hortelã da folha graúda e a aroeira; e o Malvatricin® que possui a malva, o quinosol e a tirotricina como princípio ativo⁹.

Tais agentes antimicrobianos, além de agirem sobre os microrganismos pioneiros no processo de formação do biofilme dentário, também deveriam agir frente a alguns microrganismos que coabitam o meio

ambiente oral e que podem formar biofilme como agentes únicos. Dentre tais microrganismos destacam-se, pelo potencial patogênico, os estafilococos, em especial a espécie *S. aureus* e as leveduras do gênero *Candida*^{2,3}.

Os *Staphylococcus aureus* constituem um grupo de bactérias gram-positivas, sendo uma das espécies patogênicas mais comuns e a mais virulenta de seu gênero. A capacidade do *Staphylococcus aureus*, em sobreviver e replicar dentro de células eucarióticas, é reconhecida como um fator determinante na persistência e recorrência de diversas infecções. O tratamento dessas infecções requer o uso de antibióticos, selecionados de acordo com propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas específicas, sendo que estas exibem grande capacidade de adquirir resistência a diversos medicamentos¹⁰.

A *Candida* sp. é um patógeno oportunista muito comum na microbiota da cavidade oral e sistema gastrointestinal. Ela é responsável pela candidose bucal. Essas infecções são, na maioria das vezes, tratadas com antifúngicos, embora a clorexidina também seja utilizada como fármaco alternativo ao seu tratamento. No entanto, por efeitos colaterais decorrentes do seu uso prolongado, a sua utilização permanece restrita. Este microrganismo também vem adquirindo resistência e são válidos os estudos que comprovem alternativas de tratamento a este patógeno¹¹⁻¹³.

Baseado nisso, o objetivo do estudo foi verificar, “in vitro”, o potencial antimicrobiano de fármacos alternativos (Anapyon®, Água Rabelo® e Malvatricin®) utilizados pela população, sobre os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e *Candida albicans*, tanto em sua forma planctônica como organizados em biofilme.

METODOLOGIA

Esta pesquisa constituiu-se de em estudo experimental, através da avaliação “in vitro” do potencial antimicrobiano de fármacos de uso alternativo sobre microrganismos integrantes do meio ambiente oral (Quadro 1) pertencentes à Coleção de Culturas do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Quadro 1. Distribuição dos microrganismos, fármacos e seus respectivos princípios ativos, utilizados no experimento.

Microrganismos	Fármacos (Princípio Ativo)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Clorexidina (Digluconato de clorexidina 0,12%)
<i>Candida albicans</i>	Água Rabelo® (Eucaliptol, Hortelã da folha graúda, Aroeira)
<i>Candida parapsilosis</i>	Anapyon® (Clorofila, Tirotricina, Ácido Tânico)
<i>Candida tropicalis</i>	Malvatricin® (Malva, Quinosol, Tirotricina)

Para realização do experimento utilizou-se o protocolo sequenciado durante quatro dias. Este foi inicialmente realizado para avaliação do potencial antimicrobiano dos fármacos estudados sob as formas planctônicas de cada microrganismo citado no Quadro 1. O estudo adotou como controle negativo a água destilada e controle positivo a clorexidina.

No primeiro dia, todas as amostras de microrganismos foram semeadas em BHI, por esgotamento, em placas separadas. No segundo dia, após verificar o crescimento das colônias, três foram selecionadas de cada placa de microrganismo, sendo removidas e repicadas em 2 mL de BHI com glicose 1% em tubos de ensaio, devidamente rotulados com os respectivos conteúdos. Logo após, as suspensões (3 colônias de cada microrganismo + 2 mL BHI com glicose 1%) foram incubadas em tubos de ensaio e agitadas na rotação de 250 rpm a 37°C (overnight), observando-se ao final um crescimento maciço para cada microrganismo utilizado.

No terceiro dia, cada cultura foi diluída na proporção de 1:100, confeccionando-se os seguintes grupos: controle negativo - compostos por 10 µL da cultura de cada microrganismo em BHI + 900 µL de BHI suplementado de glicose 1% + 90 µL de água destilada); controle positivo - compostos por 10 µL da cultura de cada microrganismo em BHI + 900 µL de BHI suplementado de glicose 1% + 90 µL de clorexidina; testes - constituídos de 10 µL da cultura de cada microrganismo em BHI + 900 µL de BHI suplementado de glicose 1% + 90 µL do fármaco a ser testado, diluídos conforme recomendação do fabricante. As diluições preparadas foram homogeneizadas no vórtex. Posteriormente, foram preenchidas três placas de microtitulação, contendo 96 poços cada, (para cada grupo foram utilizados 8 poços da placa), respeitando os locais pré-determinados para cada mistura realizada. Em cada poço adicionaram-se 200 µL da respectiva diluição e a placa foi incubada por 20 h a 37°C.

No quarto dia fez-se a medida da densidade óptica (DO) a 570 nm, sendo realizada então a comparação dos valores obtidos com os fármacos testados com o controle positivo (clorexidina) e negativo (água destilada).

Após a etapa descrita anteriormente, não foram analisados os fármacos testados que não apresentaram atividade antimicrobiana satisfatória para os microrganismos em suas formas planctônicas, sob a forma de biofilme, partindo do princípio que se um fármaco não é capaz de agir contra microrganismos planctônicos, ele se torna inútil contra um biofilme formado pela complexidade estrutural que este estabelece.

Para a análise do potencial antimicrobiano sobre os microrganismos arranjados em biofilme, o protocolo descrito anteriormente permaneceu inalterado no primeiro e segundo dia.

No terceiro dia, a única alteração foi que ambos os grupos, controles e teste, foram compostos por 10 µL da cultura dos respectivos microrganismos em BHI +

990µL de BHI suplementado de glicose 1%, isso para garantir a formação do biofilme.

No quarto dia após realizar a leitura da DO inicial, foram realizadas as seguintes etapas: os poços foram lavados duas vezes com água destilada estéril e, em seguida, as células aderentes foram fixadas, a partir da inserção da placa de microtitulação em forno a 65°C por 1 h. Por fim, lavou-se quatro vezes cada poço com água destilada estéril para o grupo controle negativo, com clorexidina para o grupo controle positivo e com Malvatricin® para o grupo teste. Cada um dos grupos de microrganismos foi lavado exclusivamente com um teste específico (controle positivo, controle negativo e Malvatricin®), diluídos segundo recomendação do fabricante quando necessário, e de forma isolada para evitar que o efeito de um fármaco influenciasse no efeito do outro. A placa foi secada no forno a 65°C por 1 h e mais uma vez realizou-se a medida da DO final dos biofilmes a 570 nm, para efeito comparativo.

O cálculo da DO para as formas de biofilme consistiu em: DO inicial – DO final, em que DO inicial = (leitura da absorção do crescimento bacteriano); DO final = (leitura da absorção depois da lavagem com o fármaco).

Os resultados obtidos foram registrados no SPSS (Statistical package for Social Sciences, versão 17.0) e submetidos a uma análise estatística com os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. Para este último, os valores que apresentaram significância foram penalizados pela correção de Bonferroni. O nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS

Nas Figuras 1 e 2 observa-se o potencial antimicrobiano dos fármacos sobre os microrganismos na forma planctônica e organizados em biofilme, respectivamente. Este potencial foi medido através da densidade óptica (DO) em que menores DO representavam menor quantidade de microrganismos aderidos nos poços das placas utilizadas no estudo. As menores DO, quando comparadas aos demais grupos foram, portanto, interpretadas como melhores resultados.

Na Figura 1 pode-se observar através da DO que, dos fármacos estudados, apenas o Malvatricin® apresentou bons resultados, sendo estes semelhantes ao controle positivo (clorexidina). Os resultados do Malvatricin® foram estatisticamente melhores quando comparados aos demais fármacos (Anapyon®, Água Rabelo®) e ao controle negativo. Este resultado foi semelhante para todos os microrganismos estudados.

Para a segunda parte do experimento, foi testado apenas o Malvatricin®. Os resultados mostraram que para *S. aureus* e para *Candida albicans*, houve diferença significativa entre clorexidina (controle positivo) e Malvatricin®, com melhores resultados para a clorexidina. Para *C. tropicalis*, o Malvatricin® diferiu

significativamente da água destilada (controle negativo), efeito não observado quando comparado à clorexidina.

Em relação à *C.parapsilosis*, nenhuma diferença foi observada entre Malvatricin® e os controles.

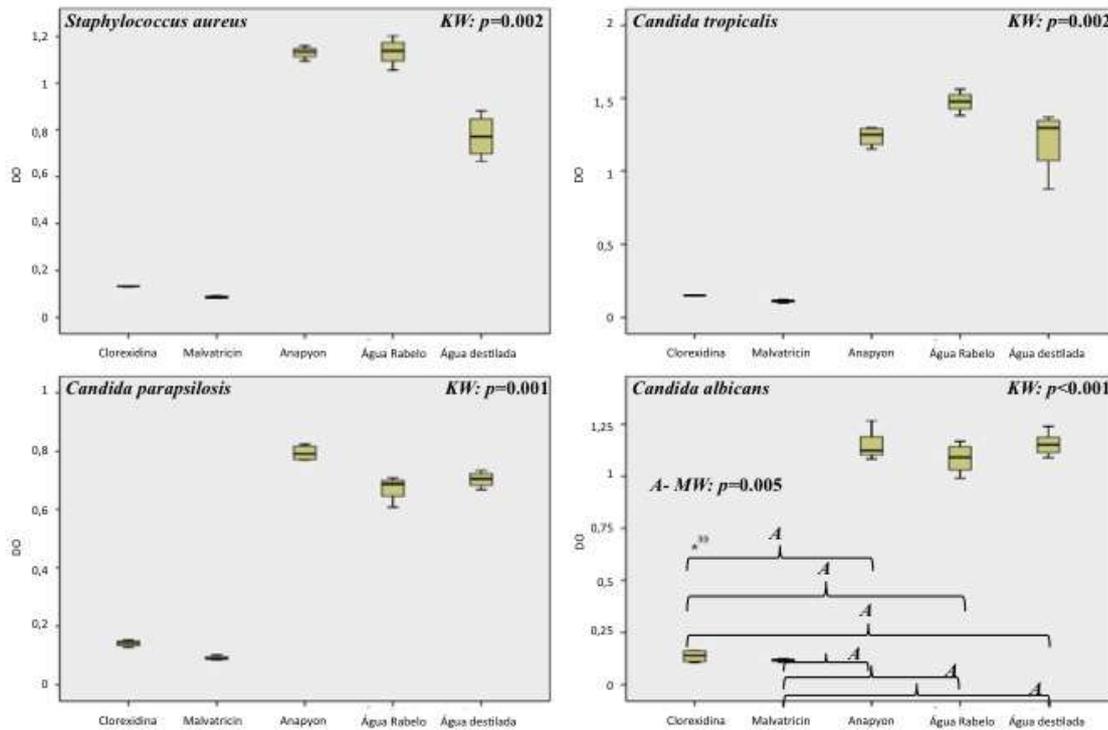


Figura 1. Box-plot mostrando a distribuição das densidades ópticas para os fármacos, controles positivo e negativo, de acordo com o microrganismo em sua forma planctônica. Legenda: DO= densidade óptica; KW=Kruskal-Wallis; MW=Mann-Whitney.

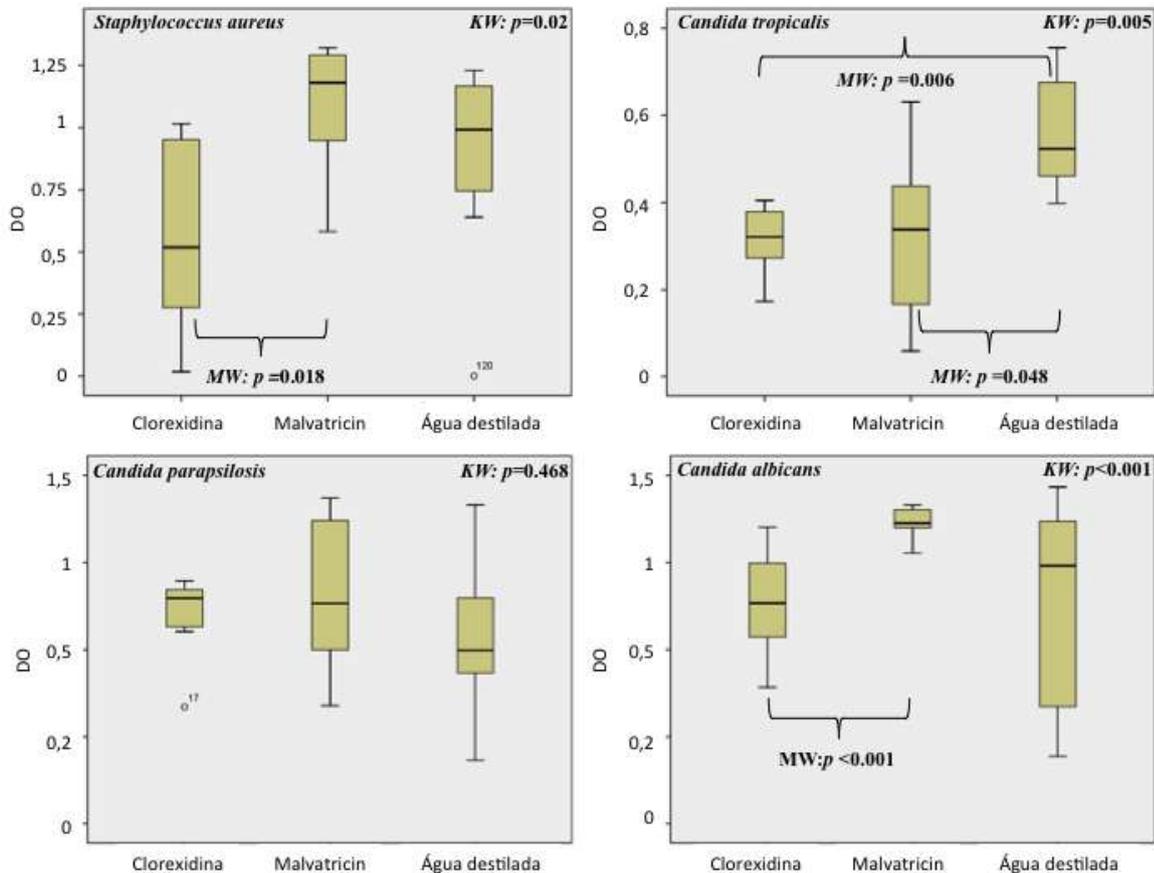


Figura 2. Box-plot mostrando a distribuição das densidades ópticas para os fármacos, controles positivo e negativo, de acordo com o microrganismo arranjado em biofilme. Legenda: DO= densidade óptica; KW=Kruskal-Wallis; MW=Mann-Whitney.

DISCUSSÃO

A produção de estudos sobre o potencial antimicrobiano de medicamentos, particularmente os antissépticos, é pouco expressiva e pouco divulgada. Consequentemente, os profissionais de saúde têm a visão sobre eles proveniente daquela veiculada pelos fabricantes. Nesse sentido, é de vital importância a realização de testes “in vitro” e clínicos para confirmar a sua efetividade, possibilitando melhor escolha do produto a ser prescrito¹⁴. Atualmente, há crescente utilização de agentes fitoterápicos em Odontologia. No entanto, mais pesquisas são necessárias para avaliar a sua segurança e eficácia para a utilização clínica, o que fortalece a importância desta pesquisa¹⁵.

Os métodos de controle químico do biofilme dentário são amplamente aceitos, principalmente quando utilizados em pacientes com alto risco à cárie dentária e doença periodontal, incluindo os usuários de aparelho ortodôntico fixo, e aqueles com distúrbios de coordenação motora, impossibilitados de realizar uma satisfatória higiene bucal através da escovação dentária^{9,14}. O presente estudo buscou avaliar o potencial antimicrobiano de antissépticos bucais de uso popular (Anapyon®, Água Rabelo® e Malvatricin®) sobre os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e *Candida albicans*, através de um estudo laboratorial “in vitro”. Neste estudo foram utilizados produtos comerciais contendo em suas formulações um único extrato de planta, combinações de extratos, e associação entre extratos e fármacos sintéticos.

Na primeira fase do experimento foi avaliado o potencial antimicrobiano dos fármacos sobre os microrganismos em sua forma planctônica. Dentre os fármacos avaliados, nesta fase do experimento, apenas o Malvatricin®, constituído de malva, quinosol e tirotricina, apresentou resultados satisfatórios, de forma que se observou diminuição da DO para todos os microrganismos avaliados, quando comparado ao controle negativo, sendo este um resultado estatisticamente significativo. Além disso, os resultados do Malvatricin® foram semelhantes ao padrão-ouro adotado que foi a clorexidina (este fármaco possui atividade antimicrobiana comprovada já que as características físico-químicas catiônicas dos seus componentes levam a sua adsorção à parede bacteriana, conduzindo a uma desestabilização de sua membrana celular, nos componentes lipídicos e aquosos e a um colapso em sua permeabilidade¹⁶. Este resultado corrobora com algumas pesquisas da literatura^{9,14,17}, que compararam a ação antibacteriana deste produto com diversos antissépticos comerciais tradicionais, em estudos “in vitro”. É importante ressaltar que ambos os trabalhos não afirmaram sobre a ação antibacteriana de cada componente específico existente na composição.

Estudo prévio¹⁸ avaliou clinicamente o Malvatricin®, sendo possível observar que seu emprego

como enxaguatório bucal resultou, ao final de sete e 14 dias, numa significativa redução dos índices gengivais e de biofilme visível em comparação a outro antisséptico (Flogoral). Sabe-se, entretanto, que os componentes quinosol e tirotricina possuem ação antibacteriana, assim, a superioridade do Malvatricin® sobre os demais fármacos testados na presente pesquisa pode estar baseada na ação desses componentes.

Tanto o Anapyon® como a Água Rabelo® apresentaram resultados insatisfatórios nesta pesquisa, não observando atividade antimicrobiana sobre qualquer dos microrganismos avaliados em suas formas planctônicas. Apesar destes resultados, alguns estudos afirmam que a aroeira (*S. terenthiofolius*), presente na composição da Água Rabelo®, possui ação antimicrobiana, antiinflamatória e antiulcerogênica, sendo utilizada como antisséptico e no tratamento de estomatites. Além disso, apresenta ação antifúngica sobre *Candida albicans* e *Candida tropicalis*^{19,20}, testadas no presente estudo.

Alguns fármacos, quando testados neste presente estudo, promoveram crescimento dos microrganismos na forma planctônica, como foi o caso do Anapyon® para o *Staphylococcus aureus* e *Candida parapsilosis*, assim como a Água Rabelo® para *Staphylococcus aureus* e *Candida tropicalis*. Achados semelhantes foram encontrados em outro estudo²¹, onde se observou que extratos vegetais (presentes nos fármacos acima citados) apresentaram atividade bacteriostática limitada e muitos realmente promoveram crescimento planctônico.

Estudos “in vitro” possibilitam contato permanente entre o agente químico e microrganismos, de modo que a substantividade influencia os resultados de forma pouco significativa. Por outro lado, estudos laboratoriais podem favorecer a ação de agentes antimicrobianos, principalmente contra microrganismos na forma planctônica. No biofilme formado, os microrganismos bucais são mais resistentes, comparativamente à sua fase planctônica^{22,23}. Sendo assim, este estudo realizou a segunda fase do experimento (avaliação antimicrobiana dos fármacos sobre os microrganismos arranjados em biofilme) apenas para os fármacos que obtiveram resultados significativos sobre os microrganismos na forma planctônica. No presente estudo apenas o Malvatricin® apresentou-se eficaz contra os microrganismos na forma planctônica.

Os resultados obtidos na segunda fase do experimento mostraram que o Malvatricin® apresentou resultados positivos apenas para a *Candida tropicalis*. Este fármaco não se apresentou eficaz para os demais microrganismos avaliados nesta pesquisa, quando estes estavam arranjados em biofilme. É importante ainda ressaltar que a clorexidina apresentou melhores resultados quando comparados ao Malvatricin®, com resultados estatisticamente significativos para os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. Em relação a este achado, uma pesquisa¹³ afirmou que os microrganismos, quando organizados em biofilme, apresentaram maior resistência à ação de

medicamentos, o que explica os resultados do presente estudo.

Estudos que testam a efetividade de produtos comerciais devem considerar, se possível, além dos constituintes farmacêuticos, as concentrações de cada princípio ativo presente, visando, dessa forma, identificar a ação de cada componente, de modo a permitir a comparação e análise dos resultados⁹, sendo esta uma limitação do presente estudo. Outros tipos de estudos, “in vivo”, são necessários para ratificar os resultados ora encontrados.

CONCLUSÃO

Os produtos tiveram desempenho variado e apesar de alguns fármacos alternativos serem comercializados como antimicrobianos, tais propriedades sobre células planctônicas e, principalmente, sobre biofilme não foram observadas, exceto para o Malvatricin® que apresentou atividade satisfatória para todos os microrganismos na forma planctônica e para *C. Tropicalis* na forma de biofilme. Sugere-se que é comprometido o uso de tais substâncias na prevenção e tratamento de algumas doenças infecciosas que acometem o meio ambiente oral.

REFERÊNCIAS

1. Marsh P, Martin MV. Microbiologia oral. São Paulo: Santos, 2005. 192p.
2. Kuramitsu HK, He X, Lux R, Anderson MH, Shi W. Interspecies interactions within oral microbial communities. *Microbiol Mol Biol Rev* 2007; 71(4):653-70.
3. Sawhney R, Berry V. Bacterial biofilm formation, pathogenicity, diagnostics and control: An overview. *Indian J Med Sci* 2009; 63(7):313-21.
4. Wolff MS, Larson C. The cariogenic dental biofilm: good, bad or just something to control? *Braz Oral Res* 2009; 23 Suppl 1: 31-8.
5. Gossell-Williams M, Simon OR, West ME. The past and present use of plants for medicines. *West Indian Med J* 2006; 55(4):217-8.
6. Gangoué-Piéboji J, Eze N, Djintchui AN, Ngameni B, Tsubang N, Pegnyemb DE et al. The in-vitro antimicrobial activity of some traditionally used medicinal plants against beta-lactam-resistant bacteria. *J Infect Dev Ctries* 2009; 3(9):671-80.
7. Soyama P. Plantas medicinais são pouco exploradas exploradas pelos dentistas. *Cienc Cult* 2007; 59(1):12-3.
8. Albuquerque ACL, Pereira MSV, Pereira JV, Pereira LF, Silva DF, Macedo-costa MR et al. Efeito antiaderente do extrato da *Matricaria recutita* Linn. Sobre microrganismos do biofilme dental. *Rev Odontol UNESP* 2010; 39(1):21-5.
9. Drumond MRS, Castro RD, Almeida RVD, Pereira MSV, Padilha WWN. Estudo comparativo in vitro da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. *Pesqui bras odontopediatria clín integr* 2004; 4(1):33-8.
10. Baudoux P, Lemaire S, Denis O, Tulkens PM, Bambeke FV,

Glupczynski Y. Activity of quinupristin/dalfopristin against extracellular and intracellular *Staphylococcus aureus* with various resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(6):1228-36.

11. LaFleur MD, Kumamoto CA, Lewis K. *Candida albicans* Biofilms Produce Antifungal-Tolerant Persister Cells. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50(11):3839-46.
12. Alves MA, 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 Soc Bras Med Trop* 2009; 42(2): 222-4.
13. Pusateri CR, Monaco EA, Edgerton M. Sensitivity of *Candida albicans* biofilm cells grown on denture acrylic to antifungal proteins and chlorhexidine. *Arch Oral Biol* 2009; 54(6): 588-94.
14. Moreira ACA, Pereira MHQ, Porto MR, Rocha LAP, Nascimento BC, Andrade BC. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. *R Ci méd biol Salvador* 2009; 8(2):153-61.
15. Groppo FC, Bergamaschi CC, Cogo K, Franz-Montan M, Motta RH, de Andrade ED. Use of phytotherapy in dentistry. *Phytother Res* 2008; 22(8):993-8.
16. Semenoff TADV, Semenoff-Segundo A, Biasoli ER. Efetividade antimicrobiana *in vitro* de enxaguatórios bucais frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev odonto ciênc* 2008; 23(4):351-354.
17. Monfrin RCP, Ribeiro MC. Avaliação in vitro de antissépticos bucais sobre a microbiota da saliva. *Rev Assoc Paul Cir Dent*; 2000; 54(5):400-7.
18. Weyne S. Avaliação clínica de dois enxaguatórios bucais-Malvatricin e Flogoral. *Odontis* 2003; 3(8):3-4.
19. Soares DGS, Oliveira CB, Leal C, Drumond MRS, Padilha WWN. Atividade antibacteriana in vitro da tintura de aroeira (*Schinusterebinthifolius*) na descontaminação de escovas dentais contaminadas pelo *S. mutans*. *Pesqui bras odontopediatria clín integr* 2007; 7(3):253-7.
20. Francisco KSF. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. *Rev saúde* 2010; 4(1):18-24.
21. Quave CL, Plano LR, Pantuso T, Bennett BC. Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol* 2008; 118(3):418-28.
22. Aquino DR, Cortelli JR, Faria IS, Siqueira AF, Cortelli SC. Ação antimicrobiana do triclosan sobre microbiota cariogênica. *Rev biociênc* 2004; 10(1-2): 79-86.
23. Sawhney R, Berry V. Bacterial biofilm formation, pathogenicity, diagnostics and control: An overview. *Indian J Med Sci* 2009; 63(7):313-321.

Recebido/Received: 20/08/2012

Revisado/Reviewed: 04/07/2013

Aprovado/Approved: 25/08/2013

Correspondência:

Kenio Costa de Lima
Universidade Federal do Rio Grande do Norte –
Departamento de Odontologia
Av. Senador Salgado Filho, 1787 – Lagoa Nova,
Natal/RN – Brasil
CEP 59056-000
Fone/Fax: 55-84-3215-4138
e-mail: limke@uol.com.br