

Atividade Antimicrobiana de Diferentes Colutórios Fitoterápicos

Antimicrobial Activity of Different Herbal mouthwashes

Ana Santos Coutinho Ribeiro^a; Aryelle Thaysa Muniz Pinto^a; Daniela de Jesus Silva^a; Iza Teixeira Alves Peixoto^{a*}

^aFaculdade de Tecnologia e Ciências, BA, Brasil

*E-mail: peixotoiza@gmail.com

Resumo

A proposta desse trabalho foi avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de colutórios fitoterápicos disponíveis no mercado (Malvatríkids®, Anapyon®, Clinexidin®, Malvatricin Plus®, Colgate Plax® Tea Fresh, Própolis®, Calêndula®, Malvona®, Água Rabelo®) contra *Streptococcus mutans* (ATCC25175), *Staphylococcus aureus* (ATCC29213). Foi utilizada a técnica por difusão em Ágar. Os discos de filtro de papel foram colocados na superfície da placa já com colutório e incubados a 37 °C por 48 horas. Após a incubação, foi avaliado crescimento bacteriano através do halo de inibição. A leitura foi feita com um auxílio de uma régua milimetrada, medindo e anotando-se o diâmetro do halo. Os colutórios Malvatricin® e Calêndula® foram os mais efetivos com halo de inibição de 3,5mm e 2,84mm, respectivamente. Os colutórios Colgate Plax®, Malvona®, Clinexidin® também apresentaram inibição bacteriana, embora inferior aos outros colutórios. Anapyon® e Malvatríkids® apresentaram pouca inibição bacteriana. Água Rabelo® e Própolis® não apresentaram inibição. Assim, o presente estudo sugere uso clínico de Malvatricin para auxílio de prevenção de infecções cirúrgicas e Calêndula para auxílio à prevenção da doença cárie.

Palavras-chave: Fitoterapia. Anti-Infeciosos. *Streptococcus mutans*. *Staphylococcus aureus*.

Abstract

In view of the limitations of mechanical methods of hygiene, antimicrobials in the form of oral rinses may be used in controlling plaque, thus aiding mechanical methods, and consequently decreasing the number of microorganisms in the oral cavity. The main aim of this study was to evaluate the in vitro antimicrobial activity of herbal mouthwashes available in the market (Malvatríkids®, Anapyon®, Clinexidin®, Malvatricin Plus®, Colgate Plax® Tea Fresh, Propolis®, Marigold®, Malvona® Water Rabelo®) against Streptococcus mutans (ATCC25175), Staphylococcus aureus (ATCC29213). The agar diffusion technique was used for bacteria enumeration. The filter paper discs were placed on the surface of the plate containing the mouthwash, and incubated at 37 °C for 48 hours. After incubation, the bacterial growth was evaluated by the inhibition zone. The reading was made with an aid of a millimeter ruler measuring the diameter of the halo. The mouthwashes Malvatricin® and Marigold® were more effective with inhibition zone of 3.5 mm and 2.84 mm, respectively. The mouthwash Colgate® Plax, Malvona®, Clinexidin® also exhibited bacterial inhibition, although lower than the other mouthwashes. Anapyon® and Malvatríkids® showed little bacterial inhibition. Rabelo and Water® Propolis® showed no inhibition.

Keyword: Phytotherapy. Anti-Infective Agents. *Streptococcus mutans*. *Staphylococcus aureus*.

1 Introdução

A remoção mecânica da placa bacteriana é determinante na prevenção e no controle da maioria das afecções bucais. Frente às limitações dos métodos mecânicos de higiene, agentes antimicrobianos em forma de enxaguatórios bucais são utilizados no controle da placa, auxiliando assim os métodos mecânicos, e consequentemente diminuindo os números de microrganismos na cavidade bucal (MARINHO *et al.*, 2007).

A utilização de agentes de controle químico é principalmente utilizada nos casos em que se verificam dificuldades no controle do biofilme, como pacientes especiais, idosos, bebês e com alto risco de cárie. Além disso, os enxaguatórios também podem ser utilizados para diminuição da quantidade de microrganismos bucais, antisepsia pré-operatória, adequação do meio bucal, prevenção de infecções pós-cirúrgicas, solução irrigadoras para tratamento

endodôntico, ou limpeza das limas endodônticas (MOREIRA *et al.*, 2008).

As plantas medicinais constituem importantes recursos terapêuticos para o tratamento da saúde, inclusive em relação à saúde bucal. Sua eficácia quando empregadas em enxaguatórios bucais tem sido investigada para o tratamento de doenças bucais. Estudos específicos da literatura sugerem que seus princípios ativos podem ser utilizados como apoio à terapia de doenças instaladas e como profilaxia de rotina, uma vez que a utilização destes produtos fitoterápicos, economicamente mais viáveis, mostra-se como uma alternativa, além de apresentarem menos efeitos colaterais quando comparados a produtos sintéticos (MARINHO *et al.*, 2007).

Diversos colutórios disponíveis no mercado possuem extratos e óleos essenciais originados de plantas medicinais. Além disso, demonstram potencial de efetividade de ação antimicrobiana. Dentre eles, a Calêndula, que demonstra

resposta positiva e ação inibitória frente a bactérias bucais e resposta positiva dos tecidos gengivais quando utilizadas para controle de gengivite (VINAGRE *et al.*, 2011), a Malva, que apresenta propriedades diuréticas e expectorantes podendo ser utilizada no tratamento de inflamações da mucosa (ALVES *et al.* 2009), a Própolis, que apresenta ação antimicrobiana, anti-inflamatória e cicatrizante (DRUMOND *et al.*, 2004). Assim, estudos são necessários para testes antimicrobianos laboratoriais de produtos fitoterápicos contra microrganismos bucais, agentes etiológicos de diversas doenças como o *S. mutans*, que apresenta alto potencial cariogênico e o *S. aureus*, que está associado a infecções (LEITES *et al.*, 2006).

Este trabalho teve como objetivo avaliar “*in vitro*” a eficácia antimicrobiana de diferentes colutórios fitoterápicos disponíveis no mercado, frente a diferentes cepas de referência de microrganismos bucais, como o *S. mutans* e *S. aureus*.

2 Material Métodos

Esta pesquisa foi realizada no laboratório de pesquisa de Microbiologia da Faculdade de Tecnologia e Ciências (FTC), campus Salvador/BA. Foram selecionados nove colutórios fitoterápicos e filtro de papel que foram recortados com auxílio de um perfurador de papel, transformados em discos e previamente esterilizados em autoclave. Foram testados os seguintes colutórios disponíveis no mercado: Malvatricids®, Extrato de Propólís®, Calêndula®, Malvona®, Malvatricin®, Colgate Plax® Tea Fresh, Água Rabelo®, Anapyon®, Clinexidin® para avaliar *in vitro* a ação antimicrobiana sobre cepas de referência *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213).

Como controle adicional, os discos de filtros foram incubados ao processamento microbiológico, sem serem utilizados. Este procedimento foi realizado com o objetivo de verificar se os discos apresentam contaminação, mesmo após o processo de esterilização (controle negativo). Para o controle positivo, foi utilizado gluconato de clorexidina 0,12%, servindo de orientação para avaliação das outras soluções.

Nos testes pelo método de difusão, os discos foram mergulhados em um recipiente contendo cada colutório, com auxílio de uma pinça clínica previamente esterilizada, e colocados na superfície do meio Ágar, já uniformemente semeado com o microrganismo.

Para preparação das placas e meios de cultura, o meio *Brain Heart Infusion Agar* (BHI) foi previamente fundido, preparado e esterilizado, conforme instruções do fabricante e foi resfriado a 45-50 °C sobre uma superfície nivelada e derramado em placas de Petri a uma profundidade de 4 mm (medida interna). As placas foram resfriadas com as tampas inclinadas para permitir evaporação do excesso de umidade. Em seguida, quando o Ágar apresentou consistência, as placas foram incubadas por 24 horas na estufa para teste de contaminação e posteriormente armazenadas em geladeira (15 °C).

Em seguida, para a preparação do inóculo, foi tocado o

topo de cada colônia com uma pinça, quatro ou cinco colônias de aparência similar do microrganismo a ser testado, que foram transferidas para um tubo de teste contendo 4-5 ml de meio líquido *Brain Heart Infusion* (BHI) caldo.

Em seguida, o tubo foi incubado a 35-37 °C em estufa por 24 horas, tempo suficiente para produzir uma suspensão bacteriana de turbidez moderada.

A quantidade do inóculo foi mensurada por meio do método de diluição, incubação por 24 horas e posterior contagem UFC (unidade formadora de colônia) nas placas contendo Ágar-BHI.

As placas de Petri com Ágar BHI foram inoculadas com 100 µl de cultura de cada microrganismo com auxílio de uma pipeta eletrônica, espalhados na placa com auxílio da alça Drigasky em três direções diferentes para obtenção de um inóculo uniforme. Em seguida, os filtros de papel foram mergulhados nos recipientes contendo os colutórios, retirado o excesso de umidade e colocados sobre a superfície do meio Ágar (Quadro 1).

Quadro 1: Colutórios utilizados e seus princípios ativos

Colutórios	Princípios Ativos
Malvatricin Plus®	<i>Malva Silvestris</i> , Sorbitol, Triclosan, Xylitol, Fluoreto de Sódio.
Anapyon®	Tomilho, Gengibre, Mentol, Cloreto de Cetilpiridínio.
Malvatricids®	<i>Malva Silvestris</i> , Xylitol, Fluoreto de Sódio
Água Rabelo®	Aroeira, Eucalipto, Hortelã
Colgate Plax® Tea Fresh	Extratos naturais de Chá
Própolis®	Extrato de Própolis
Calêndula®	Calêndula, Alcaçuz, Eucalipto, Menta, Cravo, Sorbitol,
Clinexidin®	Digluconato de Clorexidina
Malvona®	Benzocaína, Borato de Sódio, Cloreto de Cetilpiridínio, Álcool Etilico, Extrato de Fluido de <i>Malva Silvestris</i> , Fenosalil, Mentol, Sorbitol Solução a 70%, Essência de <i>Eucalyptus Globulus</i> , Essência de <i>Mentha Piperita</i> .

Fonte: Dados da pesquisa.

Posteriormente, as placas de Petri foram incubadas a uma temperatura constante na faixa de 35-37 °C, por 48 horas.

A base para o julgamento de sensibilidade é o tamanho real do halo de inibição. Este método apenas informa se um microrganismo é sensível ou resistente a um determinado antimicrobiano ou reagente quimioterápico.

A leitura das placas foi realizada com auxílio de uma régua milimetrada, medindo-se e anotando-se o diâmetro de cada halo, lendo até o ponto da inibição completa.

3 Resultados e Discussão

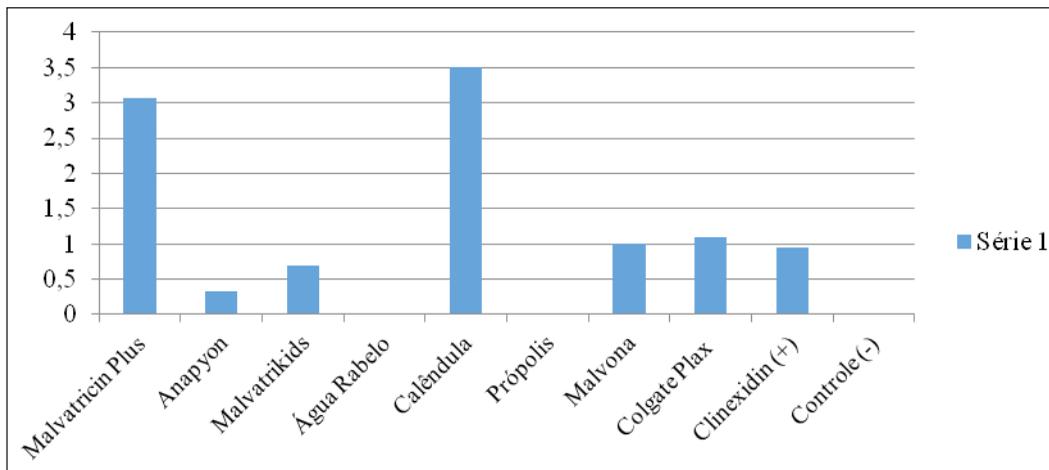
Os resultados obtidos no presente estudo *in vitro* referem-se aqueles considerados na leitura após 48 horas. As

medidas dos diâmetros dos halos de inibição referem-se aos enxaguatórios frente aos microrganismos *S. mutans* e *S aureus* apresentados nos gráficos a seguir.

No gráfico da Figura 1, o colutório mais eficaz em inibição contra o microrganismo *S. mutans* (halo de inibição 3,5mm)

foi a Calêndula. Os colutórios Malvatricin®(3,07 mm), Anapyon® (0,33 mm), Malvatricids® (0,69 mm), Calêndula® (3,5 mm), Malvona® (1,0 mm), Colgate Plax® (1,1 mm), Clinexidin® (Clorexidina à 0,12%) controle positivo (0,94 mm) apresentaram ação antimicrobiana contra *S. mutans*

Figura 1: Valores médios (mm) dos halos de inibição de crescimento de *S. Mutans* para colutórios fitoterápicos



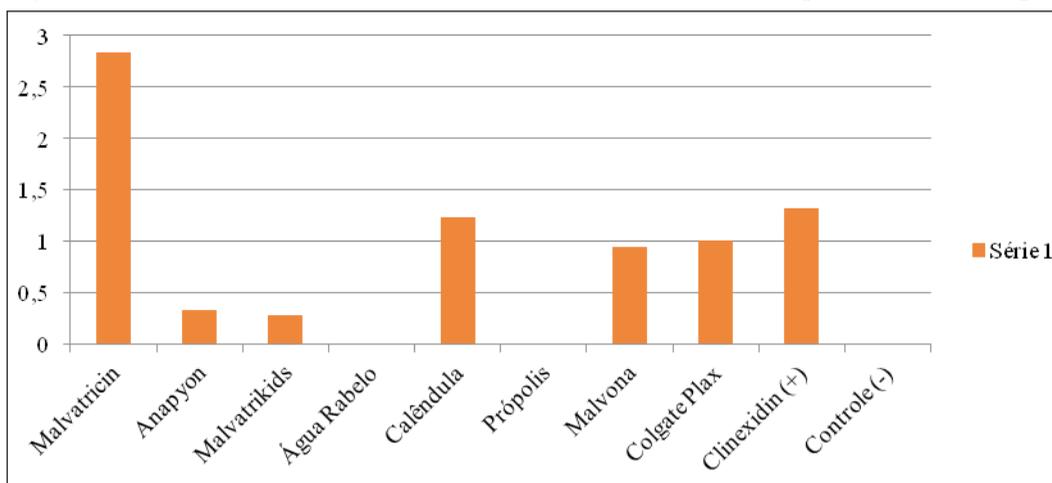
* Malvatricin®(3,07mm), Anapyon® (0,33mm), Malvatricids® (0,69mm), Água Rabelo® (zero), Calêndula® (3,5mm), Própolis®(zero), Malvona® (1,0mm), Colgate Plax® (1,1mm), Clinexidin® (Clorexidina à 0,12%) controle positivo (0,94mm), Controle negativo (zero).

Fonte: Dados da pesquisa.

No gráfico da Figura 2, o colutório mais eficaz na inibição contra o microrganismo *S. aureus* (halo de inibição 2,84 mm) foi o Malvatricin®. Observa-se ação antimicrobiana dos colutórios

Anapyon® (0,33 mm), Malvatricids® (0,28 mm), Calêndula® (1,24 mm), Malvona® (0,95 mm), Colgate Plax® (1,01 mm), Clinexidin® (Clorexidina à 0,12%) controle positivo (1,32 mm),

Figura 2: Valores médios (mm) dos halos de inibição de crescimento de *S. Aureus* para colutórios fitoterápicos



Malvatricin®(2,84mm), Anapyon® (0,33mm), Malvatricids® (0,28mm), Água Rabelo® (zero), Calêndula® (1,24mm), Própolis®(zero), Malvona® (0,95mm), Colgate Plax® (1,01mm), Clinexidin® (Clorexidina à 0,12%) controle positivo (1,32mm), Controle negativo (zero).

Fonte: Dados da pesquisa.

Água Rabelo® e Própolis®, em ambos os gráficos, não apresentaram inibição a nenhum dos microrganismos testados. No controle negativo, não houve crescimento bacteriano,

comprovando assim que os discos de filtro de papel utilizados na pesquisa estavam devidamente esterilizados e os colutórios não estavam contaminados.

Quadro 2: Média dos halos de inibição de cada colutório frente a *S. mutans*

Colutório	Diâmetro do Halo (mm)
Calêndula®	3,5
Malvatricin®	3,07
Anapyon®	0,33
Malvatrikids®	0,69
Malvona®	1,0
Colgate Plax®	1,1
Clinexidin® (Clorexidina 0,12%) controle positivo	0,94
Água Rabelo®	0
Própolis®	0

Fonte: Dados da pesquisa.

Quadro 3: Média dos halos de inibição de cada colutório frente ao *S. aureus*

Colutório	Diâmetro do Halo (mm)
Calêndula®	1,24
Malvatricin®	2,84
Anapyon®	0,33
Malvatrikids®	0,28
Malvona®	0,95
Colgate Plax® TEA FRESH	1,01
Clinexidin® (Clorexidina à 0,12%) controle positivo	1,32
Água Rabelo®	0
Própolis®	0

Fonte: Dados da pesquisa.

O uso dos enxaguatórios bucais é um método coadjuvante para os pacientes que apresentam dificuldades para realizar higiene oral mecânica, pois são de uso fácil, refrescante e possuem acesso às bactérias mesmo em áreas de maior dificuldade (ZANIN *et al.*, 2007).

Dos nove colutórios utilizados no presente estudo, apenas dois apresentavam flúor em sua composição. Diante dos resultados obtidos, o colutório Malvatricin® que apresentou um dos maiores halos de inibição, possui em sua composição o fluoreto de sódio e o triclosan, além de outros princípios ativos, como o extrato de malva (*Malva Silvestris*).

O fluoreto de sódio é amplamente usado em colutórios devido ao efeito do flúor no esmalte dental. Além de remineralizar o esmalte dental, o fluoreto de sódio interfere no metabolismo e crescimento de bactérias produtoras de ácido na placa bacteriana, além de inibir a formação de polissacarídeos que promovem a adesão de bactérias à superfície do esmalte (ZANIN *et al.*, 2007).

Já o triclosan é uma substância usada em sabonetes e produtos cosméticos que apresenta largo espectro de ação antimicrobiana e baixa substantividade, previne a codificação de aminoácidos essenciais em concentrações bacteriostáticas

e, em concentrações bactericidas, causa desorganização da membrana citoplasmática da bactéria, promovendo extravasamento do conteúdo intracelular. Quando utilizado em baixas concentrações (0,2-0,5%), interfere no metabolismo de algumas espécies bacterianas, afetando a produção de ácidos por *Streptococcus sp.* e a atividade das proteases por *Porphyromonas gingivalis* (AQUINO *et al.*, 2004).

Estudos clínicos utilizando agentes antimicrobianos, em especial o triclosan, têm sido conduzidos com o propósito de avaliar a sua efetividade como adjunto ao controle mecânico do biofilme dental, demonstrando sua efetividade em colutórios e dentífrícios (AQUINO *et al.*, 2004).

Apesar de demonstrar ação antimicrobiana eficaz, dentre os colutórios que apresentavam o triclosan como princípio ativo, o Malvatricin® foi o único que apresentou eficácia. Já o Malvatrikids® não apresentou halo de inibição frente às cepas bacterianas testadas.

Moreira *et al.* (2012) sugeriram que os resultados para o produto comercial Malvatricin® apresentam atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus spp.* e sobre um “pool” de microrganismos da cavidade bucal. Este efeito provavelmente deva-se à ação da substância quinosol que, isolada, demonstrou atividade antimicrobiana sobre todos os microrganismos *S. mutans* e *Lactobacillus spp.*

O quinosol apresenta ação antisséptica, antibacteriana, antifúngica e propriedades desodorantes (BUFFON *et al.*, 2001). No entanto, não foram encontrados na literatura outros estudos que relatem o efeito do quinosol sobre microrganismos da cavidade bucal.

Moreira *et al.* (2012) observaram que quando utilizado apenas o extrato etanólico de malva, na concentração de 5 µg/mL, pouca ou nenhuma atividade antimicrobiana foi observada sobre os microrganismos testados. Entretanto, Alves *et al.* (2009) atribuíram a atividade antimicrobiana à *Malva silvestris*, que além de exercer atividade antimicrobiana, mostrou-se também efetivo na inibição da síntese de glucanos, sobre todos os microrganismos analisados. Baccarelli *et al.* (2000) realizaram uma pesquisa com a Malvona®, que além da *Malva Silvestris*, apresenta em sua composição o borato de sódio. Esse colutório demonstrou eficácia apenas contra as cepas de *Lactobacillus*.

No presente estudo, a Malvona®, o Malvatricin® e Malvatrikids® ofereceram ação antimicrobiana para os dois microrganismos testados. Na literatura específica, a eficácia dos enxaguatórios analisados não foi associada ao fluoreto de sódio em sua composição.

Outro colutório avaliado foi a Água Rabelo® que tem como princípios ativos a aroeira, o eucalipto e a hortelã. Os resultados do presente estudo foram similares ao estudo de Drumond *et al.* (2004), que realizaram um comparativo *in vitro* da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas e não observaram atividade antimicrobiana.

A aroeira possui ação antimicrobiana, anti-inflamatória e antiulcerogênica, sendo utilizada como antisséptico e no tratamento de estomatites (BACCARELI *et al.*, 2000).

Quando analisadas em forma de extratos separados, a hortelã e a aroeira apresentaram uma potente capacidade de inibir o crescimento bacteriano frente a *S. aureus*, *S. mutans* e *C. albicans* (SOARES *et al.*, 2006; TORRES *et al.*, 2000).

A própolis também foi testada no presente estudo por meio do enxaguante Propólis®. Na sua composição, a própolis possui uma massa resinosa extraída de diversas partes das plantas, pelas abelhas *Apis mellifera*, adicionada de sua secreção salivar, tais como o broto, botões florais e exudatos resinosos. Esta resina é comumente utilizada devido às suas propriedades antimicrobiana, anti-inflamatória, imunestimulatória, hipotensiva, antitumoral, cicatrizante e antisséptica relatadas por diversos trabalhos científicos realizados no mundo inteiro (TORRES *et al.*, 2000).

No entanto, no presente estudo foi testado colutório à base de própolis, que não apresentou atividade antimicrobiana. Esse resultado pode ser explicado devido a outras substâncias que compõem o colutório e podem ter influenciado na sua propriedade antimicrobiana, já comprovada em diversas pesquisas (SOARES *et al.*, 2006; TORRES *et al.*, 2000).

O Colgate Plax TEA FRESH®, que possui em sua composição produtos naturais à base de chá, apresentou eficácia antimicrobiana frente aos dois microrganismos testados neste estudo, com halo de inibição de 1,01 mm de diâmetro. Francisco (2010) relatou que estudos com chás mostram que estas infusões podem ser utilizadas para inibir o crescimento bacteriano, por meio da inibição da aderência nas superfícies dentais e redução na produção dos ácidos e polissacarídeos extracelulares. O fabricante não discriminou os produtos encontrados no chá. Sendo assim, não se pode sugerir qual princípio ativo é responsável pela inibição bacteriana.

O colutório Calêndula® foi o que apresentou maior halo de inibição frente a *S. mutans*, com 3,5 mm. Ele possui em sua composição calêndula, alcaçuz, eucalipto, menta, cravo e sorbitol. O extrato de calêndula possui ação antisséptica, antibacteriana e bioestimulante, quando utilizado para reparação óssea (VINAGRE *et al.*, 2011), o que corrobora com os resultados do presente estudo para indicação clínica desse colutório.

Além disso, o eucalipto, que é um dos componentes do colutório de Calêndula®, apresenta ação antifúngica e antibacteriana, sendo um dos remédios caseiros mais comuns e utilizados pela população (DRUMOND *et al.*, 2004).

O extrato isolado de *Calendula officinalis* demonstrou atividade antimicrobiana semelhante à Clorexidina (VINAGRE *et al.*, 2011), conforme os resultados do presente estudo. Além disso, a *Calendula* também apresentou eficácia no tratamento dos tecidos gengivais (VINAGRE *et al.*, 2011). Assim, colutórios que contenham o extrato padronizado da *Calendula officinalis* podem ser sugeridos no controle do

biofilme dental.

Mesmo assim, a clorexidina ainda apresenta os melhores resultados clínicos no controle químico da placa, quando comparada a outros agentes antimicrobianos tópicos. A aplicabilidade desta substância abrange desde função desinfetante de superfícies, de canais radiculares, até a atuação como antimicrobiano eficaz no controle de placa dentária, na prevenção e tratamento de gengivite e periodontite, controle da colonização por *S. mutans* e prevenção de cáries. O gluconato de clorexidina pode ser utilizado profilática e/ou terapêuticamente, em forma de solução para bochechos, verniz, gel, irrigação subgengival, dispositivos intraorais de liberação lenta, entre outros veículos. Por ser altamente eficaz, é considerado padrão ouro na Odontologia, geralmente utilizado como controle positivo para medida da eficácia antimicrobiana (MARINHO *et al.*, 2007). Nesse estudo, a clorexidina demonstrou significativas zonas de inibição frente a todos os microrganismos testados. Diante da necessidade de recursos de menor custo para atender as comunidades mais carentes e dos mecanismos de resistência bacteriana com as drogas existentes no mercado, a fitoterapia surge como alternativa para prevenir infecções e auxiliar no tratamento de infecções bucais (FRANCISCO *et al.*, 2010).

Diante dos resultados obtidos, pode-se sugerir que o colutório de Calêndula® pode ser associado ao tratamento e a prevenção da doença cárie. Já o colutório Malvatricin Plus® pode ser prescrito para o período pré-cirúrgico, auxiliando na prevenção de futuras infecções.

Embora os medicamentos fitoterápicos sejam considerados relativamente seguros porque são “naturais”, os dados encontrados na literatura são poucos para sustentar essa hipótese. Efeitos secundários podem ocorrer devido à ingestão incorreta dessas plantas, como efeitos tóxicos e interações com outras drogas, consideradas convencionais ou até mesmo medicinais, e conseqüentemente haver efeitos deletérios ao indivíduo (RODRIGUEZ-FRAGOSO *et al.*, 2008).

A utilização de produtos fitoterápicos na Odontologia, deve ser feito sob conhecimento e responsabilidade do cirurgião dentista, pois se trata de um contrassenso o uso indiscriminado de produtos naturais (FRANCISCO *et al.*, 2010).

4 Conclusão

Os colutórios testados apresentaram diferentes resultados contra as cepas de *S. mutans* (ATCC 25175) e *S. aureus* (ATCC 29213) *in vitro*.

Dentre os colutórios fitoterápicos comercialmente disponíveis, a Calêndula® apresentou o maior halo de inibição frente às cepas de *S. Mutans* e o Malvatricin® apresentou o maior halo de inibição frente às cepas de *S. Aureus*.

Os colutórios Colgate Plax®, Malvona®, Clinexidin® (Clorexidina a 0,12%) também apresentaram inibição bacteriana, embora inferior aos outros colutórios.

Anapyon® e Malvatricids® apresentaram pouca inibição

bacteriana. Água Rabelo® e Própolis® não apresentaram inibição.

Referências

- ALVES, P.M. *et al.* 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.*, v.42, n.2, p.222-224, 2009.
- AQUINO, D.R. *et al.* Atividade antimicrobiana do triclosan sobre microbiota cariogênica. *Rev. Biociênc.*, v.10, n.12, p.79-86, 2004.
- BACCARELI, J.C.; RIBEIRO, M.C. Sensibilidade dos *Lactobacillus* a anti-sépticos bucais. *Rev. Ciênc. Mé.*, v.9, n.3, p.99-104, 2000.
- BUFFON, M.C.M. *et al.* Avaliação da eficácia dos extratos de *Malva Sylvestris*, *Caléndula officinalis*, *Plantago major* e *Curcuma zedoarea* no controle do crescimento das bactérias da placa dentária. Estudo “*in vitro*”. *Rev. Visão Acad.*, v.2, n.1, p.31-38, 2001.
- DRUMOND, M.R.S. *et al.* Estudo comparativo *in vitro* da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. *Pesq. Bras. Odontop. Clin. Integ.*, v.4, n.1, p.33-38, 2004.
- FRANCISCO, K.S.F. Fitoterapia: uma boa opção para o tratamento odontológico. *Rev. Saúde*, v.4, n.1, p.18-24, 2010.
- LEITES, R.B.C.A.; PINTO, B.M.; SOUSA, R.E. Aspectos microbiológicos da cárie dental. *Revista Salusvita*, v.25, n.2, p.239-252, 2006.
- MARINHO, S.V.B.; SILVA, A.S. O uso dos enxaguatórios bucais sobre a gengivite e o biofilme dental. *Int. J. Dent.*, v.6, n.4, p.124-131, 2007.
- MOREIRA, A.C.A. *et al.* Atividade de um enxaguatório bucal com clorexidina a 0.12% sobre a microbiota sacarolítica da saliva. *Rev. Ciênc. Méd. Biol.*, v.12, n.4, p.505-509, 2008.
- MOREIRA, M.J.S.; FERREIRA, M.B.C.; HASHIZUME, L.N. Atividade antimicrobiana dos componentes de um enxaguatório bucal contendo malva. *Pesq. Bras. Odontop. Clin. Integ.*, v.12, n.4, p.505-509, 2012.
- RODRIGUEZ-FRAGOSO, L. *et al.* Risks and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v.227, n.1, p.125-135, 2008.
- SOARES, D.G.S. *et al.* Suscetibilidade *in vitro* de bactérias bucais a tinturas fitoterápicas. *Rev. Odonto Ciênc.*, v.21, n.53, p.232-237, 2006.
- TORRES, C.R.G. *et al.* Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na odontologia. *Braz. Dental Sci.*, v.3, n.2, p.43-52, 2000.
- VINAGRE, N.P.L. *et al.* Efetividade clínica de um enxaguatório bucal fitoterápico com tintura padronizada de *Calendula officinalis* na manutenção da saúde periodontal. *Rev. Odontol. UNESP*, v.40, n.1, p.30-35, 2011.
- ZANIN, S.M.W. *et al.* Enxaguatório bucal: principais ativos e desenvolvimento de fórmula contendo extrato hidroalcoólico de *Salvia Officinalis L.* *Rev. Visão Acad.*, v.8, n.1, p.19-24, 2007.