



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Maria Fernanda Rath Rodrigues

**Avaliação da eficácia antimicrobiana de produtos naturais sobre
microrganismos cariogênicos: revisão de literatura**

Araraquara
2023



UNESP - Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Maria Fernanda Rath Rodrigues

**Avaliação da eficácia antimicrobiana de produtos naturais sobre
microrganismos cariogênicos: revisão de literatura**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista, para a obtenção do grau de Cirurgião-dentista.

**Orientadora: Profa. Dra. Denise Madalena
Palomari Spolidorio**

**Araraquara
2023**

R696a

Rodrigues, Maria Fernanda Rath

Avaliação da eficácia antimicrobiana de produtos naturais sobre microrganismos cariogênicos: revisão de literatura / Maria Fernanda Rath Rodrigues. -- Araraquara, 2023

38 p.: il., tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Odontologia)
- Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara

Orientadora: Denise Madalena Palomari Spolidorio

1. Antibacterianos. 2. Fitoterapia. 3. Plantas medicinais. 4. Placa dentária. 5. Boca. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**UNESP - Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara**

Maria Fernanda Rath Rodrigues

**Avaliação da eficácia antimicrobiana de produtos naturais sobre
microrganismos cariogênicos: revisão de literatura**

Orientador: Profa. Dra. Denise M. Palomari Spolidorio

Assinatura Orientador (a): 

Assinatura Aluno (a): 

Araraquara, 17 de maio de 2023 .

Ao meu avô Dagoberto Valeriano Rath e à minha tia Keila Andréa Resende Rath (ambos in memoriam)

Dedico esse trabalho de conclusão de curso a vocês que sempre estiveram comigo em todas as etapas da minha vida. Ajudaram minha mãe a cuidar de mim, me levaram para escola, aulas de inglês, conservatório, hospitais de madrugada, me apoiaram e acima de tudo me amaram até o último momento. Vocês acompanharam meu crescimento e conquistas e só posso imaginar o quanto ficariam felizes por me ver formando.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Valéria Virginia Resende Rath e ao meu pai Marcos Antônio Andrade Rodrigues pelo carinho, amor, esforço, dedicação, sacrifícios e apoio durante toda minha trajetória.

Aos meus familiares pelo apoio e incentivo durante todos os anos da graduação.

À minha orientadora Profa. Dra. Denise M. Palomari Spolidorio pela sua orientação, atenção, ajuda e compreensão ao longo do projeto e da graduação.

Aos meus amigos Julia Batista, Leticia de Freitas, Leticia Durão, Milena Gimenes, Pedro Adriano de A. Gois, Natasha Prates, Rayssa Soares e Veronica Canela, obrigada por compartilhar a vida, ensinamentos, vitórias e frustrações nos últimos anos, levarei todos comigo no coração para sempre.

Ao programa institucional de bolsas de iniciação científica (PIBIC), CNPq (Conselho Nacional De Desenvolvimento Científico e Tecnológico – processo nº1092) pelo incentivo e apoio financeiro oferecido para realização desse projeto.

“A eternidade é o estado das coisas neste momento.”
Clarice Lispector*

*Lispector, Clarice. “A Hora da Estrela”. Brasil: Rocco; 1977.

Rodrigues MFR. Avaliação da eficácia antimicrobiana de produtos naturais sobre microrganismos cariogênicos: revisão de literatura [Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação em Odontologia]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

RESUMO

A cavidade bucal é um ambiente dinâmico, com diferentes tipos de tecidos e estruturas as quais variam quanto à tensão de oxigênio, pH, disponibilidade de nutrientes, temperatura e exposição aos fatores imunológicos do hospedeiro. A cárie dentária é uma das doenças bucais infecciosas mais comuns e de grande prevalência mundial e a busca por produtos naturais para combatê-la tem aumentado. O crescimento de novas substâncias fitoterápicas está sendo desenvolvidas e direcionadas para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos como método de prevenção, a fim de controlar, desestruturar o biofilme e evitar a progressão da doença cárie. Objetivou-se realizar uma revisão da literatura sobre a eficácia antimicrobiana de produtos naturais sobre microrganismos cariogênicos como medida alternativa aos agentes antimicrobianos químicos existentes. Trata-se de uma análise por meio de uma revisão da literatura, com divisão em duas (2) categorias: Estudos in vitro e estudos in vivo, do tipo narrativa com base nos bancos de dados: Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), Scientific Electronic Library Online (Scielo), National Center for Biotechnology Information (Pubmed). Foram utilizados os descritores biofilme dental, antibacterianos, fitoterapia, plantas medicinais, além dos termos correspondentes em inglês e espanhol. Diante da revisão realizada pode-se concluir que as plantas medicinais apresentam resultados bastante significativos no combate ao biofilme dental, seja por suas propriedades antimicrobianas ou pelo seu potencial antiaderente frente as bactérias formadoras do biofilme dental.

Palavras – chave: Antibacterianos. Fitoterapia. Plantas medicinais. Placa dentária. Boca.

Rodrigues MFR. Evaluation of antimicrobial efficacy of natural products on cariogenic microorganisms: literature review [Trabalho de Conclusão de Curso – Graduação em Odontologia]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

ABSTRACT

The oral cavity is a dynamic environment, with different types of tissues and structures that vary with respect to oxygen tension, pH, nutrient availability, temperature, and exposure to host immune factors. Dental caries is one of the most common and highly prevalent infectious oral diseases worldwide, and the search for natural products to combat it has increased. New phytotherapeutic substances are being developed and directed to the development of new antimicrobial agents as a method of prevention, in order to control, destructure the biofilm and prevent the progression of caries disease. The aim was to conduct a literature review on the antimicrobial efficacy of natural products on cariogenic microorganisms as an alternative measure to existing chemical antimicrobial agents. This is an analysis by means of a literature review, divided into two (2) categories: in vitro studies and in vivo studies, of the narrative type based on the databases: Virtual Health Library (VHL), Scientific Eletronic Library Online (SciELO), National Center for Biotechnology Information (Pubmed). The descriptors dental biofilm, antibacterials, phytotherapy, medicinal plants were used, as well as the corresponding terms in English and Spanish. Based on this review, it can be concluded that medicinal plants have significant results in combating dental biofilm, either by their antimicrobial properties or by their anti-adherent potential against the bacteria that form dental biofilm.

Keywords: Anti-bacterial agents. Phytotherapy. Plants, medicinal. Dental plaque. Mouth.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS.....	13
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	14
4 MÉTODOS	16
4.1 Estudos In Vitro	16
4.2 Estudos In Vivo	17
5 DISCUSSÃO	18
5.1 Estudos In Vitro.....	18
5.2 Estudos In Vivo	23
6 CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS.....	32
ANEXO A.....	37
ANEXO B.....	38

1 INTRODUÇÃO

O conjunto de bactérias, protozoários, vírus e fungos em uma comunidade ecológica de microrganismos é chamado de microbioma. No corpo humano existem mais de 100 trilhões de microrganismos espalhados por toda sua extensão, em sua maioria localizada no trato gastrointestinal e desempenham papéis fundamentais na saúde humana e nas doenças¹. Os fatores que controlam a composição microbiana das diversas partes do corpo estão relacionados com a temperatura, pH, água, oxigenação, nutrientes e ação do sistema imunológico. O desenvolvimento da microbiota primária depende inicialmente da maneira como o recém-nascido vem ao mundo, se é por um parto natural sua primeira colonização se assemelha às microbiotas dos fluidos vaginais e intestinais da mãe, já em um parto por cesárea a primeira colonização possui organismos que se assemelham à microbiota da pele materna^{2,3}. Durante os primeiros meses de vida da criança as bactérias primárias colonizam superfícies mucosas e com a erupção dos primeiros decíduos inicia-se a colonização dos tecidos duros da cavidade oral do bebê sendo as mudanças durante as fases da vida como a troca da primeira dentição, cirurgias de extração, cáries e a presença de próteses fatores que podem afetar o sinergismo do microbioma oral⁴. A saliva secretada diretamente na cavidade oral é de extrema importância para saúde bucal, uma vez que atua na preservação da neutralidade do pH da cavidade, na ação antibacteriana contra a microbiota cariogênica, no equilíbrio da desmineralização/remineralização do esmalte e na hidratação das estruturas como dentes e mucosas^{5,6}. A dieta do indivíduo, a variabilidade do fluxo de saliva ou até mesmo a ingestão de antibióticos causam alterações nesse ecossistema e uma pequena alteração pode levar a diversas condições patológicas⁷. A redução no consumo de açúcares e uma alimentação saudável e equilibrada são elementos de suma importância para manter o sistema imunológico íntegro.

A cavidade bucal é um ambiente dinâmico, apresentando diferentes tipos de tecidos e estruturas que variam quanto à tensão de oxigênio, pH, disponibilidade de nutrientes, temperatura e exposição aos fatores imunológicos do hospedeiro⁸. É constituída por várias estruturas e cada uma delas é um nicho ecológico que promove o desenvolvimento de microrganismos, é também o local com maior diversidade de microrganismos. É habitada por mais de 700 espécies de microrganismos e alguns deles são responsáveis pela formação do biofilme dentário cariogênico como,

Streptococcus mutans e *Streptococcus sobrinus*, e outras como, *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*, estão presentes no sulco gengival levando à doença periodontal⁹. Estas também estão associadas com doenças sistêmicas como pneumonia e doenças cardiovasculares e por esta razão há necessidade de prevenção através de cuidados bucais e controle do biofilme dentário mediante remoção mecânica.

O biofilme é um conjunto de microrganismos emaranhados em uma matriz de polímero orgânico que estão aderidos a uma superfície. A formação de biofilme é um processo dinâmico e complexo que pode ser dividido em cinco fases (Figura 1):

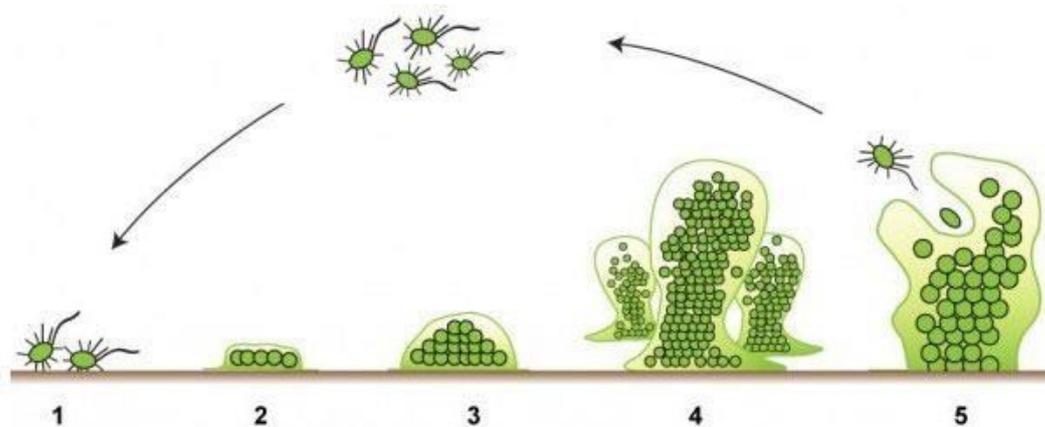
Fase 1. Aderência reversível das bactérias à superfície. União fraca das bactérias com o substrato que ocorre em apenas 1 minuto.

Fases 2 e 3. Adesão irreversível à superfície, com um estágio inicial de crescimento e divisão com produção de um exopolímero protetor e o desenvolvimento final da colônia com dispersão de células colonizadoras. Ligações irreversíveis são formadas num período entre 20 minutos e 4 horas.

Fase 4. Crescimento e maturação. As células bacterianas resultantes formam uma microcolônia em torno do local de união. Se as condições forem adequadas, será desenvolvida uma colônia organizada. Ao longo da etapa de maturação, o biofilme se adapta à presença de nutrientes, oxigênio e mudanças populacionais. Estima-se que o desenvolvimento desta fase seja de 2 a 4 dias.

Fase 5. Difusão de células colonizadoras. Finalmente, algumas bactérias da matriz do biofilme são libertadas para colonizar novas superfícies, fechando ou iniciando o ciclo.

Figura 1 - Esquema das fases da formação do biofilme oral na superfície dental



Fonte: Emery Pharma¹⁰.

Assim, para que os biofilmes se formem é indispensável à presença de três ingredientes básicos: microrganismos, glicocálix e superfície. Consiste numa comunidade de diversos microrganismos, fluidos gengivais e restos alimentares incorporados numa matriz de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) em superfícies bióticas ou abióticas¹¹. A matriz EPS compreende macromoléculas de origem microbiana, como polissacarídeos, proteínas e lipídios¹², ela é a responsável pela morfologia, estrutura, coesão, integridade funcional dos biofilmes e a sua composição determina a maioria das propriedades físico-químicas e biológicas dos biofilmes. O biofilme está associado ao dente e desempenha um papel importante na causalidade da cárie dentária constituído por proteínas salivares, células epiteliais de descamação e bactérias principalmente organismos como *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* e *Lactobacillus acidophilus* os quais possuem um papel vital nessa causalidade¹³.

A cárie dentária é uma das doenças bucais infecciosas mais comuns e de grande prevalência mundial, apesar das diversas abordagens como tentativas de reduzir suas incidências¹⁴. Ela implica na interação ao longo do tempo de uma superfície dentária, bactérias cariogênicas, susceptibilidade do hospedeiro e disponibilidade de fonte de carboidratos fermentáveis. Com o desequilíbrio ecológico do biofilme, há o aumento na proporção desses microrganismos, levando a uma produção cada vez maior de ácidos, promovendo a desmineralização dos tecidos duros dentários tornando-os mais susceptíveis ao aparecimento de lesões de cárie¹⁵. O controle regular do biofilme dental é utilizado e recomendado para prevenir e limitar os efeitos e a progressão da cárie e doenças gengivoperiodontais¹⁶. O controle

mecânico consiste na escovação dos dentes, dos tecidos moles da boca e limpeza dos espaços interproximais com o fio dental sendo o meio mais simples e barato para o paciente¹⁷. Para auxiliar no controle e na redução do biofilme da superfície do dente, recomendam-se bochechos que contenham flúor, álcoois e agentes antimicrobianos que podem ser produtos químicos ou naturais. Estes agentes antimicrobianos para serem ideais devem ser eficazes contra os microrganismos, agir rapidamente, manter atividade em baixas concentrações, não ter efeitos colaterais e serem utilizados sem causar desconforto¹⁸.

Um dos agentes antimicrobianos mais utilizados na prevenção e tratamento de doenças bucais é a clorexidina, aceita como padrão-ouro por ser auxiliar na cura da periodontite e efetiva na cura da gengivite¹⁹. Atua na desorganização geral da membrana celular, na inibição específica de enzimas da membrana²⁰. Porém, estudos sugerem que ela possa estar relacionada com a seleção de bactérias resistentes a antibióticos²¹, além de não ser efetiva no tratamento e prevenção da cárie dental²². A clorexidina também é conhecida por causar, com o uso contínuo, alteração da coloração dos dentes, descamação da mucosa oral, sensibilidade e alteração do paladar. Outro agente antimicrobiano químico recomendado é o Triclosan, ele possui amplo espectro antimicrobiano com atividade contra bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos. Seu mecanismo de ação ocorre com a desorganização da membrana celular e inibição inespecífica de enzimas da membrana²⁰. Devido a isto, o estudo de agentes antimicrobianos naturais tem ganhado grande espaço por causarem menos efeitos colaterais nos pacientes e por inibirem efetivamente o crescimento e a adesão de bactérias patogênicas, não formando o biofilme dentário¹⁸.

2 OBJETIVOS

A revisão apresentada neste artigo procurou explorar a relação entre a eficácia antimicrobiana de produtos naturais sobre microrganismos cariogênicos como uma medida alternativa aos agentes antimicrobianos químicos e como supracitados, o agente utilizado deve ser ideal em termos de biocompatibilidade, atividade antimicrobiana, estabilidade em diferentes condições ambientais, com menor sensibilidade ao desenvolvimento de resistência a microrganismos e seguro para uso *in vivo* e *in vitro*.

3 REVISÃO DA LITERATURA

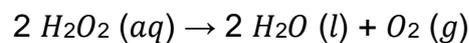
A busca por produtos naturais para combater as infecções tem aumentado devido à presença de resistência aos medicamentos existentes, facilidade de preparo, uso e à procura de custos menores. Esses produtos conhecidos como fitoterápicos, mostram ser potencialmente interessantes, no que se refere a sua atividade antimicrobiana. Produtos de origem natural proveniente de constituintes de plantas e/ou derivados semissintéticos tem mostrado grande capacidade de inibição da atividade microbiana dos patógenos presentes na cavidade bucal. Cada vez mais trabalhos revelam que os produtos de origem natural são uma opção eficaz para o controle e prevenção das doenças infecciosas que acometem a boca^{23,24}.

Os agentes antimicrobianos naturais mais utilizados e conhecidos são: o Cravo-da-Índia, Melaleuca, arnica, *Garcinia manii*, calêndula, própolis, mel, *Syzygium cumini*²⁵, eucalipto e óleos vegetais obtidos a partir de plantas oleaginosas ou sementes²⁶. Estudos mostraram que óleos de girassol, gergelim e coco foram capazes de reduzir a formação do biofilme e a gengivite causada pelo mesmo²⁷. A própolis é conhecida por possuir atividade antibacteriana, antifúngica e antiviral podendo prevenir cárie, candidíase e periodontite²⁶. O óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (TTO), também conhecido como o óleo da árvore do chá, demonstra amplo espectro de atividades biológicas. Este é comumente utilizado na Austrália como um agente terapêutico tópico. Os usos medicinais deste produto relacionam-se principalmente com os anti-inflamatórios e antimicrobianos²⁸. Em pesquisa realizada por Drumond²⁹ foi comprovada que o extrato hidroalcoólico da casca de romã obteve a mesma eficácia que a clorexidina quanto à inibição do biofilme supragengival e que o extrato hidroalcoólico também inibe o crescimento de algumas bactérias presentes no biofilme oral, incluindo o *S. mutans*.

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é conhecido por sua capacidade de se dissociar espontaneamente em várias espécies reativas de oxigênio (ROS), por seus fortes efeitos de quimiotaxia em leucócitos, por peroxidação lipídica das paredes das células bacterianas e por perturbar a explosão respiratória de neutrófilos em fluidos de feridas e, portanto, é considerado um agente antibacteriano inespecífico e relevante³⁰.

BlueM® International³¹ (Wapenveld, Holanda) capitalizou este tópico de tecnologia de desinfecção conceitualmente viável e recentemente apresentou o

dentifrício BlueM®. Este creme dental e enxaguatório de venda livre contém oxigênio ativo e lactoferrina em sua composição e, de acordo com seu fabricante, o mecanismo de ação subjacente é baseado na distribuição controlada de ROS nos locais das lesões. E assim como os antibióticos, destrói as células microbianas sem afetarem as células humanas devido ao efeito oxidante dos íons de superóxido (O_2^{*-}) em lipídios e aminoácidos, que rompem as paredes celulares dos microrganismos. Sua ação também é devida à destruição do DNA microbiano pelas hidroxilas produzidas quando os íons O_2^{*-} reagem com vapor de água. Sua fórmula contém enzimas, mel e percarbonato de sódio os quais ao entrarem em contato com a saliva do paciente sofrem lise e liberam baixas concentrações de peróxido de oxigênio (H_2O_2) eliminando os microrganismos nocivos e equilibrando o microbioma oral [R]³².

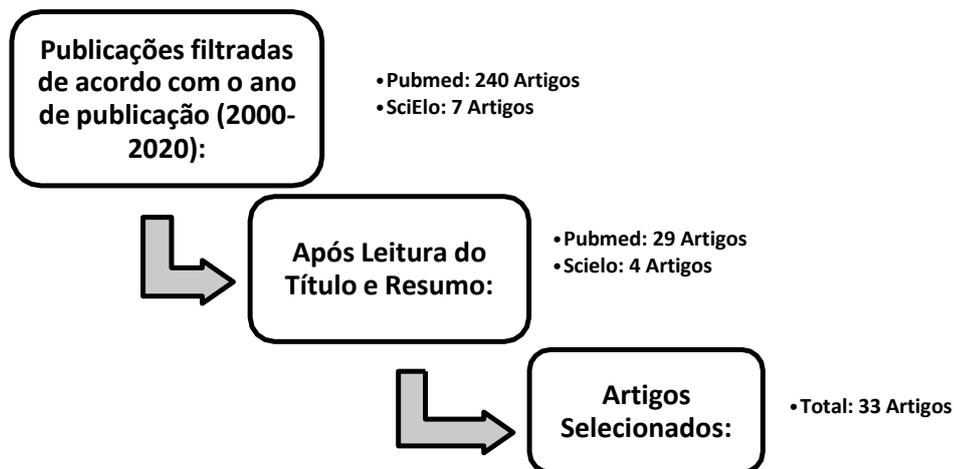


O conhecimento sobre novas formas de evitar ou diminuir as infecções bucais se tornam imprescindíveis e agentes naturais vêm sendo testados cada vez mais, devido aos seus baixos efeitos colaterais, custos reduzidos e abundância na natureza.

4 MÉTODOS

Neste estudo foi realizada uma revisão de literatura com a pesquisa de publicações textuais em banco de dados Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), Scientific Eletronic Library Online (SciELO), National Center for Biotechnology Information (Pubmed), durante o período de janeiro a junho (2020). Foram utilizados os seguintes descritores: “natural products on cariogenic microorganisms”, “oral antimicrobial efficacy of natural products”, “anticariogenic efficacy of natural products”, “oral antimicrobial effect of active oxygen”. Ao todo 33 artigos publicados nos últimos vinte anos (2000-2020) em não duplicidade foram mantidos para estudo (foram excluídos os estudos de reflexão, opinião, resumos e revisões de literatura) e todos possuíam seu texto completo disponível nas plataformas de busca. Para facilidade de análise de dados e estudo, foram divididos em duas (2) categorias: estudos in vitro e estudos in vivo.

Figura 2 - Fluxograma referente à seleção de artigos para este estudo. 2021



Fonte: Elaboração própria.

4.1 Estudos In Vitro

Para os estudos in vitro foram avaliados 31 elementos naturais, extraídos com diferentes solventes, na forma de óleos essenciais ou de extratos brutos obtidos das cascas, folhas ou raiz, todos em diferentes concentrações. Foram eles: *Schinopsis brasiliensis* Engl; *Persica* (*Salvadora persica*, *Achillea millefolium*, *Mentha spicata*); Própolis; Mel; Rubusoside; *Mikania spicata*; Flavonoides (apigenina”, “morina”,

“luteolina”, “rutina”, “naringina”, “mirricetina”, “catequina” e “quercetina”); *Coffea* sp; *Psidium cattleianum*; *Maleleuca alternifolia* (terpinen-4-ol); *Glycyrrhiza glabra*; *T. cordifolia*; *Ocimum sanctum*; *Terminalia chebula*; *Garcinia mangostana*; *Acacia arábica*; *Casearia sylvestris*; *Rosmarinus officinalis*; *Punica granatum*, *Nelumbo dracunculifolia*, *Psidium guajava* & *Coffea canephora*; Os estudos foram conduzidos de maneiras similares, com cálculos de MBC e MIC, análises como cromatografia líquida de alta eficiência, análise dos efeitos em biofilme, avaliação de citotoxicidade e genotoxicidade da solução.

4.2 Estudos In Vivo

Para os estudos in vivo foram avaliados estudos com 19 elementos naturais, extraídos com diferentes solventes, na forma de óleos essenciais ou de extratos brutos obtidos das cascas, folhas ou raízes e em diferentes concentrações. Sendo eles: *Psidium guajava* L.; *Glycyrrhiza uralensis*; Propolis; *Triphala* (*Emblica officinalis*, *Terminalia chebula*, *Terminalia bellerica*); HiOra® [Pilu (*Salvadora persica*) – 5.0 mg; bibhitaki (*Terminalia bellerica*) – 10 mg; Nagavalli (*Piper betel*) – 10 mg; Gandhapura *taila* – 1.2 mg, *ela* – 0.2 mg; *Peppermint satva* – 1.6 mg; *yavanisatva* – 0.4 mg]; *Matricaria chamomile* L.; *Salvadora persica* (*Miswak*); *Melaleuca alternifolia* (MEL); *Triphala churna*; *Xylitol*; *Aloe Vera*; *Baccharis dracunculifolia*. Para concluir os estudos in vivo, foram avaliadas pesquisas: duplo-cego, randomizadas e com a presença de grupo-controle, variando entre placebo ou clorexidina com grupos alvos variando entre crianças, adultos maiores de 18 anos e pessoas usuárias ou não de próteses totais.

5 DISCUSSÃO

Os dados e informações obtidas durante a seleção e estudo dos artigos selecionados para esta revisão de literatura serão discutidos abaixo.

5.1 Estudos In Vitro

Estudos de Metha et al.³³ avaliaram a eficácia antimicrobiana de 4 extratos de origens naturais (*Punica granatum*, *Nelumbo dracunculifolia*, *Psidium guajava* e *Coffea canephora*) contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Candida albicans*. Foi utilizado o método de difusão de disco e preparadas soluções em diferentes concentrações de cada extrato (1%, 5%, 10%, 15% e 20%). Os resultados mostraram que todos os extratos foram eficazes, sendo *Punica granatum* e *Nelumbo dracunculifolia*, e *Punica granatum* e *Coffea canephora* os que apresentaram melhor atividade antimicrobiana, respectivamente para *S. mutans* e *S. mitis*, e *C. albicans*. Para *P. intermedia* somente o extrato de *Punica granatum* não apresentou atividade antimicrobiana, e para *P. gingivalis* exclusivamente, o *Coffea canephora* foi considerado eficaz.

Ferrazzano et al.³⁴ analisaram a atividade antibacteriana do suco de romã e os extratos da casca (*Punica granatum*). Os autores determinaram os valores da concentração inibitória mínima (MIC) e da concentração bactericida mínima (MBC) de extratos hidroalcoólicos da *Punica granatum* contra *Streptococcus mutans* e isolado clínico de *Rothia dentocariosa*. Os resultados obtidos mostraram que os extratos da casca inibem efetivamente o crescimento e sobrevivência da cepa de *S. mutans* e o crescimento de *R. dentocariosa*. O extrato do suco de romã apresentou alta atividade inibitória contra *S. mutans* e atividade inibitória moderada contra *R. dentocariosa*.

Ainda em estudos in vitro, Moreira et al.³⁵ avaliaram a atividade do extrato da *Mikaina glomerata* (Guaco) contra bactérias causadoras da cárie dentária. O extrato possui características de produto com propriedades antialérgicas, antiinflamatórias e antimicrobianas, e dessa forma foi considerado um produto natural com ingrediente ativo para cuidados e higiene oral. Foi desenvolvido o extrato da *M. glomerata* rico em ácido ent-kauneróico (KAMg) pelo método de HPLC (Cromatografia Líquida De Alta Eficiência) e suas propriedades citotóxicas e genotóxicas foram avaliadas em comparação com o ácido kauneróico e clorexidina. Os resultados apresentados para

Concentração Inibitória Mínima e a Concentração Mínima Bactericida (MIC e MBC), sobre *E. faecalis*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. sobrinus* e *L. casei*, confirmaram a ausência de atividade genotóxica e citotóxica; KA (ácido entkauneróico) e KAMg mostraram inibição do crescimento das bactérias em valores de MIC baixos, porém, maiores que os valores mostrados pela clorexidina. Dessa forma, os autores concluíram a necessidade de estudos para testagem da segurança e efeitos anticariogênicos *in vivo* do extrato de *Mikaina glomerata*.

Também em estudo publicado em 2016, Bonilla et al.³⁶, analisou o efeito do óleo essencial da *Rosmarinus officinalis* (alecrim) sobre *Porphyromonas gingivalis*. Foi realizado o perfil cromatográfico do óleo por meio da cromatografia em camada delgada, para identificar os compostos presentes na solução, e calculou-se a atividade antimicrobiana através do método de diluição em ágar, em triplicata, seguindo os protocolos descritos pelo “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)” com resultados obtidos após sete dias de incubação, sendo o metronidazol (0,071 µg/ml) o controle positivo. Os resultados mostraram que o óleo essencial possui predominantemente compostos terpenos em sua composição, e o MIC para a *P. gingivalis* possui efeitos bacteriostáticos com valor de 1000 µg/ml e efeitos bactericidas com valor de 1200 µg/ml. Sendo assim, a atividade do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* contra *P. gingivalis* trouxe uma contribuição para a busca de princípios ativos naturais alternativos aos produtos artificiais para o tratamento de doenças periodontais e mostram a possibilidade de sua utilização na medicina bucal para controle de *Porphyromonas gingivalis*.

Estudos posteriores de Janardhanan et al.³⁷ analisaram os efeitos antimicrobianos da *Garcinia mangostana* (mangostim) sobre microrganismos cariogênicos como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus oralis* e *Lactobacillus acidophilus*. A clorexidina foi utilizada como controle positivo e foram calculadas a Concentração Inibitória Mínima e a Concentração Mínima Bactericida (MIC e MBC) pelo método de microdiluição, e realizado o teste de Mann-Whitney para comparar as zonas de inibição do mangostim e clorexidina. Os resultados mostraram que o extrato de pericarpo de mangostim apresentou maior zona de inibição contra as bactérias testadas o que sugere sua potente ação contra microrganismos cariogênicos. O estudo concluiu que é preciso mais análises para isolar os compostos de *G. mangostana* explorando seu potencial terapêutico contra microrganismos orais gram negativos.

Ariamanesh et al.³⁸ avaliaram o efeito sinérgico do enxaguatório bucal composto por '*persica*' (*Salvadora persica*, *Achillea millefolium* e *Mentha spicata*) e extrato etanólico iraniano da própolis contra a formação de biofilme bacteriano (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*). Foram calculados o MIC e MBC da pérsica, própolis, mel sozinhos e em associações. Os resultados do MIC do enxaguatório de pérsica sozinho obteve o melhor efeito contra o *S. mutans*; a combinação de pérsica com própolis teve seu perfil de inibição com melhor desempenho do que o mel e nenhuma das combinações (própolis & pérsica/mel & pérsica) obtiveram efeito sinérgico contra as bactérias estudadas. Sendo assim concluiu-se que o uso de outras substâncias que não o mel e própolis podem melhorar a atividade antimicrobiana do enxaguatório bucal de *Salvadora persica*.

Estudo realizado por Bordini et al.³⁹, analisou a atividade antibacteriana do terpinen-4-ol contra o *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus* assim como sua influência na expressão gênica. Com ensaio XTT foram determinadas as concentrações inibitórias de 0,24% para o biofilme de *S. mutans* e 0,95% para o *L. acidophilus*. A microscopia confocal mostrou a presença de um biofilme aderido às superfícies do esmalte e dentina com efeitos do terpinen-4-ol contra esses microrganismos. A expressão dos genes *gbpA* e *slpA* que atuam na adesão e formação do biofilme foi averiguada por RT-PCR, e mostrou que suas expressões diminuíram após 15 minutos da exposição do biofilme às concentrações inibitórias mínimas do terpinen-4-ol para cada microrganismo. Esses achados comprovaram a capacidade antimicrobiana do terpinen-4-ol e sua capacidade de modulação gênica, demonstrando sua capacidade para uso terapêutico na odontologia para inibir a adesão do biofilme.

Ainda no ano de 2018, Ramalingam e Amaechi⁴⁰ demonstraram o efeito antimicrobiano de extrato de ervas de *Acacia arabica* associado com triphala (combinação de três frutas: *Emblica officinalis*, *Terminalia chebula* e *Terminalia bellerica*) em biofilme cariogênico. Três extratos com a associação entre os compostos supracitados na seguinte proporção: *A. arabica* (70%), *T. chebula* (10%), *T. bellerica* (10%), *E. officinalis* (10%), foram preparados representando componentes polares, polares inferiores e não polares, agrupados, evaporados e armazenados. Formam denominados como "Mixed Herbal Powder Extract (MHPE)" e determinados o MIC, MBC, perturbação do biofilme e seus efeitos anticariogênicos. O biofilme de *S. mutans*

foi tratado com MHPE por 1 min, 5 min e 1 h e analisado por microscopia confocal. Concluiu-se que o extrato possui efeitos antiaderentes e antibiofilmes assim como atividade antimicrobiana eficaz contra microrganismos cariogênicos.

Em 2019, Gutiérrez-Venegas et al.⁴¹, demonstraram os efeitos dos flavonoides: “apigenina”, “morina”, “luteolina”, “rutina”, “naringina”, “mirricetina”, “catequina” e “quercetina” na atividade antimicrobiana dos microrganismos presentes no biofilme dentário. Os microrganismos avaliados foram *Candida albicans*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces viscosus*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus sanguinis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Staphylococcus aureus*. Discos de papel foram impregnados com os flavonoides em doses crescentes entre 0,1mg/ml e 1,0mg/ml a cada 0,1 como intervalo e 5,0mg/ml e impregnados na ampicilina 0,1µg/ml, usada como controle positivo. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados mostraram que luteolina, morina, naringina, quercetina e rutina inibiram *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces viscosus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Lactobacillus casei*. Apigenina mostrou atividades contra *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*. A catequina apresentou atividade antimicrobiana apenas contra *A. actinomycetemcomitans* e *S. aureus*. Se mostraram efetivas na inibição da *Candida albicans* a luteolina, naringina, morina, quercetina e rutina e por último, sozinha, a morina apresentou halo de inibição contra as 7 (sete) cepas diferentes de bactérias e *C. albicans*. Esses resultados mostraram evidências de que os flavonoides de origem natural exibem atividade antimicrobiana bacteriostática contra todas as bactérias e fungos testados. A morina foi o mais eficaz, e todos os flavonoides avaliados podem ser aliados no controle e manutenção da saúde bucal contra o biofilme bacteriano.

Ainda no ano de 2019, Ribeiro et al.⁴², analisaram as atividades antibiofilme e antimicrobiana de 12 extratos de *Coffea canephora* obtidos em diferentes biomas brasileiros contra *Streptococcus mutans* e a *Candida albicans*. Os resultados mostraram que três extratos obtidos da Mata Atlântica (FLO/SC, GUA/CE, PRE/SP) foram capazes de reduzir em $\geq 50\%$ da população viável de *S. mutans*, enquanto dois extratos também obtidos no mesmo bioma (PAC/CE, PRE/SP) diminuíram em $\geq 50\%$ a população viável de *C. albicans*. Para a análise de biofilme do *S. mutans* os extratos obtidos em GUA/CE, PAC/CE, PRE/SP reduziram a sua biomassa em $\geq 91\%$ e 100% da sua população microbiana. Para o biofilme fúngico, os extratos PAC/CE, PRE/SP

reduziram a contagem de células viáveis em $\geq 52\%$ sem redução da biomassa. Os extratos com maior atividade antimicrobiana e antibiofilme apresentaram maior teor de diterpenos do tipo clerodano e menor teor de flavonoides glicosilados. Nenhuma amostra obteve efeitos na remoção de células aderidas à película enquanto promoveu o desprendimento de um maior número de células de *S. mutans* da matriz de GtfB-glucano, enquanto FLO/SC, GUA/CE e PRE/SP reduziram a quantidade de glucanos, apenas as frações de acetato de etila reduziram a população microbiana de *S. mutans* (exceto PAC/CE) e entre os acetatos de etila três amostras (duas do Cerrado e uma Cerrado/Caatinga) reduziram $\geq 83\%$ da população microbiana. Com esses resultados os autores concluíram que extratos de *C. sylvestris* da Mata Atlântica e frações com acetato de etila de extratos vindos do Cerrado e Cerrado/Caatinga podem ser usados estrategicamente contra microrganismos cariogênicos.

Rai et al.⁴³, compararam a eficácia antimicrobiana de quatro diferentes extratos de plantas contra bactérias cariogênicas: extratos de *Ocimum sanctum* (Tulsi/Manjericão Sagrado), *Terminalia chebula* (Harad), *Tinospora cordifolia* (Guduchi), e de *Glycyrrhiza glabra* (Alcaçuz/Regaliz). O estudo foi dividido em duas etapas e as cepas escolhidas para avaliação foram *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*. Na fase I do estudo a zona de inibição foi maior para *G. glabra* seguido por *O. sanctum*, *T. chebula* e *T. cordifolia*. Na fase II avaliou-se a profundidade da cárie após tratamento com os diferentes tipos de agentes anticariogênicos, sendo a maior profundidade para a *T. cordifolia*, *T. chebula* e *G. glabra* em ordem decrescente. Os resultados mostraram que o extrato do alcaçuz possui potente eficácia antibacteriana contra *S. mutans* e *L. acidophilus*, mostrando que fitoterápicos podem ser utilizados como alternativas às drogas sintéticas utilizadas na odontologia para a saúde bucal.

No mesmo ano, Sette-De-Souza et al.⁴⁴ avaliaram a atividade antimicrobiana e citotoxicidade de extratos da casca da *Schinopsis brasiliensis* (baraúna/aroeira) no combate a microrganismos orais causadores de patologias biofilme-dependentes. A atividade antimicrobiana foi determinada pelo MIC (Concentração Inibitória Mínima), a citotoxicidade com base no potencial hemolisante das amostras e a degradação térmica realizada por dois métodos diferentes com o ácido gálico identificado como o principal composto das amostras e presente em maior quantidade na fração clorofórmio, justificando o pico exotérmico apresentado por todas as amostras, consistente com a sua degradação. Todas as porções mostraram inibição do

crescimento dos microrganismos testados (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus salivarius*), sem apresentar citotoxicidade, portando potencialmente candidatas para uso em formulações dentais de controle do biofilme oral.

Ainda em 2020, Guan et al.⁴⁵ mostraram o efeito da Rubososideo, um adoçante natural não nutritivo substituto da sacarose, sobre biofilme de *Streptococcus mutans* e na sua expressão gênica virulenta. Amostras da bactéria foram expostas a quatro meios: BHI (brain heart infusion) como grupo controle, meio suplementado com sacarose 1%, meio suplementado com rubososídeo 1% e meio suplementado com xilitol 1%. Todas as curvas de crescimento foram monitoradas por cristal violeta e pH dos meios medidos a cada 24 h durante cinco dias. Posteriormente os biofilmes formados nas lamelas de vidro foram recuperados para determinação de sua massa, número de UFC e quantidade de polissacarídeos intra e extracelulares. Também foi avaliada a imagem estrutural do biofilme por microscopia eletrônica de varredura (MEV), a expressão do gene de virulência determinada por transcrição reversa quantitativa (PCR). Os resultados mostraram que o crescimento de *S. mutans* em meio com rubososideo 1% resultou em níveis mais baixos de produção de ácido do que os observados nos outros meios. Ao mesmo tempo em que reduziu o nível de acúmulo de biofilme e a viabilidade bacteriana e a produção de polissacarídeos extracelulares, em questão de genes de virulência, o crescimento em rubososideo e xilitol apresentaram inibição significativa da expressão de genes quando comparados à expressão do crescimento em sacarose. Os autores concluíram que o rubososídeo apresenta menor potencial cariogênico quando comparado à sacarose e o xilitol, podendo tornar-se um substituto eficaz da sacarose para a prevenção da cárie.

5.2 Estudos In Vivo

Estudos in vivo de Srinagesh et al.⁴⁶ mostraram a eficácia antimicrobiana da Triphala 6% contra *Streptococcus* presentes na cavidade bucal no período de 48 h e sete (7) dias, com uso diário duas vezes ao dia. O enxaguatório apresentou em sua constituição três partes iguais dos frutos 'Harada' (*Terminalia chebula*), 'Amla' (*Emblica officinalis*) e 'Behara' (*Terminalia bellerica*). Sessenta pessoas entre 18-25 anos foram selecionadas para o estudo e excluídos os que haviam utilizado antibióticos/corticosteroides nos últimos três meses ou eram alérgicos aos

enxaguatórios bucais utilizados no estudo, os três grupos de estudo foram: (A) enxaguatório bucal com triphala 6%, 15 ml duas vezes ao dia; (B) enxaguatório bucal com clorexidina 0,2%, 15 ml duas vezes ao dia (grupo de controle ativo) e (C) grupo controle passivo água pura, duas vezes ao dia. Os resultados mostraram que o grupo Triphala apresentou redução de 17% e 44%, enquanto o grupo clorexidina apresentou redução de 16% e 46% ao final das 48 h e 7 dias. Os autores concluíram que por ser um produto natural, não foi observado manchas nos dentes após o uso, nem sabor desagradável persistente, e que a triphala pode ser um aliado na abordagem da medicina bucal para o controle bacteriano diário contra *Streptococcus* orais.

Em 2014, Mohankumar et al.⁴⁷ realizaram um estudo controle randomizado para avaliar a eficácia da Aloe Vera (100 %) em forma de enxaguatório bucal para combate ao biofilme dentário por um período de quatro dias. No total, trezentos indivíduos sistemicamente saudáveis foram selecionados e divididos aleatoriamente em três grupos. Os Índices de Placa (IP) e Índice Gengival (IG) foram registrados antes dos experimentos e todos receberam profilaxia dental. Os indivíduos foram orientados a não realizar medidas mecânicas de higiene e fazer bochechos com as soluções respectivas do seu grupo-teste de acordo com as doses terapêuticas durante quatro dias. Sem apresentar efeitos colaterais, o enxaguatório bucal de Aloe Vera se mostrou tão eficaz na redução do biofilme quanto a clorexidina.

Pedrazzi et al.⁴⁸ realizaram ensaio clínico randomizado e controlado triplo-cego em humanos com enxaguatório bucal à base de ervas contendo extratos de *Baccharis dracunculifolia* (alecrim-do-campo) para o controle de biofilme dentário em comparação a outros enxaguatórios já populares no mercado. *B. dracunculifolia* presente na América do Sul é conhecida por exibir ações protetoras contra úlceras gástricas, propriedades antiinflamatórias, antimicrobianas e hepatoprotetoras e é usada pelas abelhas brasileiras para produção de própolis verde. Doze indivíduos sistemicamente saudáveis entre 18 e 30 anos foram selecionados e divididos em quatro grupos. Os grupos receberam todas as soluções de enxágue (Formulação básica sem componente ativo: controle/Colgate Plax/Formulação teste com componente ativo – extrato e óleo essencial de *B. dracunculifolia*/Listerine) em momentos diferentes sendo previamente submetidos a um período de 24 h sem uso de produtos de higiene oral e seus Índices de Placa medidos. Foram analisados os biofilmes após uma semana de uso, sendo comprovados nos mesmos níveis do triclosan, Gantrez e óleos essenciais pré-estabelecidos como agentes de controle de

biofilme, sem efeitos colaterais como manchas, sensação de ardência, irritação ou sabor desagradável prolongado. Com isso enxaguatórios bucais à base de *B. dracunculifolia* se mostraram eficazes na complementação da higiene oral para redução do biofilme.

Goes et al.⁴⁹ analisaram a eficácia do enxaguatório a base de Matricaria chamomile 1% (MTC) e clorexidina 0.12% (CHX) para a redução da gengivite e controle de biofilme em pacientes sob tratamento ortodôntico. Em um estudo randomizado duplo-cego controlado trinta pacientes, com idades entre 10 e 40 anos, em uso de aparelhos ortodônticos fixos, com o mínimo de vinte (20) dentes naturais foram separados em três grupos (n=10) com soluções enxaguatórias diferentes (15ml de um placebo, clorexidina 0.12%, ou enxaguatório bucal MTC 1%). Como adversidades, cinco pacientes do grupo CHX descreveram queimação e alterações do paladar após quatorze dias de uso do produto, um paciente do grupo placebo relatou dormência na língua no primeiro dia de uso e nenhum sintoma adverso foi associado à solução de MTC. Os dados dos IPV e ISG obtiveram uma redução significativa quando comparados ao grupo placebo, valores que não foram distinguíveis entre os grupos CHX 0.2% e MTC 1%. Os pacientes que receberam M. chamomile 1% não apresentaram recessão gengival ou alterações à profundidade de sondagem durante o estudo. Sem efeitos colaterais e presentes atividades antimicrobianas e anti-inflamatórias, os autores concluíram que este produto é eficaz para o tratamento da gengivite humana.

No mesmo ano, Niedzielska et al.⁵⁰ avaliaram a influência do extrato etanólico do gel de própolis verde brasileiro na higiene e microbiota oral em pacientes após fratura de mandíbula considerando uma adequada higiene, um dos fatores mais importantes que afetam a cicatrização de feridas orais. Essa substância produzida pelas abelhas tem ações bactericidas, fungicidas, anti-inflamatórias e antioxidantes podendo prevenir cárie, candidíase e periodontite²⁶. No total trinta e um pacientes adultos, voluntários, com fraturas mandibulares estáveis por osteossíntese e fixadas intraoralmente, com dentes preservados em todos os quadrantes foram selecionados. Todos os voluntários foram distribuídos aleatoriamente entre dois grupos de estudos: Grupo 1 (n = 16) fizeram uso do gel dentário do extrato etanólico da própolis verde brasileira a 3% (EEP-B), e Grupo 2 (n = 15) que usaram o gel dentário sem EEP-B para a higiene oral (grupo placebo). Durante os dias 1, 8 e 22 após a cirurgia os casos foram avaliados por Índice Aproximado de Placa (IAP) e Índice de Higiene Oral (IGH)

para presença de cálculo e biofilme. Amostras da mucosa do assoalho bucal foram colhidas no primeiro e no último dia do experimento para testes microbiológicos. Como resultados, o EEP-B apresentou efeito benéfico na higiene oral pós-operatória, permitindo eliminar microrganismos patogênicos e oportunistas sem prejudicar a microbiota do ecossistema oral. As preparações de própolis utilizadas para alcançar a saúde oral podem ser alternativas às preparações contendo clorexidina ou triclosan.

No ano seguinte, Baratakke et al.⁵¹ avaliaram a eficácia do extrato etanólico de Triphala 0.6% e do enxague bucal com clorexidina 0.12% sobre biofilme e gengivite em ensaio clínico duplo-cego randomizado. Muito conhecido no Sistema de Saúde Indiano o pó Triphala consiste em três partes iguais dos três compostos: 'Harada' (*Terminalia chebula*), 'Amla' (*Emblica officinalis*) e 'Behara' (*Terminalia bellerica*). Durante 21 dias, sessenta participantes do gênero feminino com idades entre 18 e 24 anos foram distribuídas aleatoriamente em três grupos, Grupo 1- Triphala, Grupo 2- CHX e Grupo 3- controle. Na primeira avaliação foram medidos o Índice Gengival e o Índice de Placa de todas as participantes as quais foram dispensadas sem nenhuma orientação quanto à higienização oral, porém com o enxaguante bucal de seu devido grupo e instruções para seu uso de 10 ml duas vezes ao dia durante trinta segundos. As participantes foram reexaminadas pelo mesmo examinador após 21 dias e a avaliação oral refeita para registrar os novos índices gengivais e de biofilme. Os resultados mostraram que os grupos triphala e clorexidina tiveram redução significativa no IP e IG comparando-os com o grupo controle. O grupo 1 não relatou nenhuma reclamação quanto a efeitos colaterais e adversos. Concluiu-se que o extrato etanólico de triphala 0.6% possui atividades antibiofilme e anti-inflamatória podendo ser uma alternativa segura na manutenção da saúde bucal.

Briso et al.⁵² avaliaram em estudo clínico os efeitos do clareamento dental a base de peróxido sobre *Streptococcus mutans* presentes na saliva, mucosa oral e biofilmes supra e subgengivais. Trinta voluntários foram divididos aleatoriamente em dois grupos de acordo com a terapia de clareamento. Grupo CP: clareamento com peróxido de carbamida 10% 4 h ao dia por 21 dias; Grupo HP: clareamento com peróxido de hidrogênio 6% 1,5 h ao dia durante 21 dias. Amostras da saliva, mucosa oral e biofilmes supragengivais e subgengivais foram colhidos antes do início dos procedimentos, imediatamente após e trinta (30) dias depois do tratamento, todos os pacientes foram aconselhados a não comer, beber ou realizar qualquer higiene oral uma (1) hora antes das consultas e a não engolir saliva durante a coleta das amostras.

Os resultados mostraram que as populações bacterianas analisadas nas amostras salivares não sofreram alterações independentemente do tipo de tratamento. Entretanto houve redução significativa na população de *S. mutans* nas regiões sub e supragengivais analisadas no Grupo HP imediatamente após o clareamento, sem nenhuma mudança nessas áreas para o Grupo CP. Apesar de não influenciar permanentemente a população de *Streptococcus mutans* e causar um aumento na rugosidade superficial do esmalte, agentes clareadores principalmente à base de peróxido de hidrogênio são capazes de reduzir momentaneamente a população desses microrganismos no ambiente oral, resultados explicados pelas características do peróxido presente nos clareadores o qual é responsável pela peroxidação lipídica das paredes das células bacterianas.

Sushma et al.⁵³ avaliaram as propriedades antifúngicas da *Triphala churna* (mistura de pó e ervas contendo: Amalaki - *Emblica officinalis*; Haritaki - *Terminalia chebula*; Bibhitaki - *Terminalia bellerica*) e a clorexidina 0,2%, o grupo controle. Durante 30 dias, os voluntários foram divididos em dois grupos (n = 30) cada, sendo o primeiro grupo aqueles orientados a higienizar as próteses com algodão embebido em clorexidina 0,2%, bochechos com o mesmo produto e depois mergulhar suas próteses em água. O segundo grupo recebeu as mesmas instruções com a diferença da solução de clorexidina 0,2% para *Triphala churna*. Foram coletados swabs de próteses parciais removíveis dos 60 pacientes antes e depois dos protocolos com as soluções testes, e cultivados em 'Sabouraud Dextrose Agar (SDA)' para a contagem de unidades formadoras de colônia totais de *Candida albicans*. Os autores concluíram que a *Triphala churna* quando comparada a clorexidina apresenta melhor propriedade antifúngica, e sua disponibilidade nas regiões rurais e mais afetadas economicamente a tornam uma vantagem custo-benefício no combate a *Candida albicans*, podendo ser utilizada na produção de enxaguantes e outros meios para a higiene oral.

Em um estudo clínico-microbiológico, Siddeshappa ST et al.⁵⁴ realizaram uma avaliação comparativa dos efeitos antibiofilme na gengivite utilizando um enxaguatório à base de ervas HiOra® [*Salvadora persica*, *Terminalia bellerica*, *Piper betel*, Peppermint *satva* (Menthol)] e dióxido de cloro. Foram selecionados quarenta pacientes entre 20 e 50 anos, sistemicamente saudáveis, com mínimo de vinte dentes presentes na cavidade bucal, sem sinais de cáries não tratadas, com presença de gengivite leve a moderada e sangramento à sondagem sem nenhuma terapia periodontal nos últimos seis meses. Os voluntários foram divididos em dois grupos

aleatoriamente, o Grupo A recebeu o enxaguatório bucal à base de HiOra®, o Grupo B recebeu o enxaguatório à base de dióxido de cloro (contendo clorito de sódio [como dióxido de cloro estabilizado], fosfato de sódio tribásico, água purificada, ácido cítrico e sucralose), todos foram orientados a usar 15ml da substância duas vezes ao dia, durante trinta segundos após a ingestão do café da manhã e jantar e receberam profilaxia oral profissional prévia. Foram medidos o Índice de Placa (IP), o Índice Gengival (IG) e o Índice de Sangramento no início do estudo e durante o 7º, 14º e 21º dia. Amostras de biofilme foram coletadas do sulco gengival e avaliadas em UFC/ml os níveis de *Streptococcus mutans*, *Tannerella forsythia*, e *Fusobacterium nucleatum*. Os resultados mostraram redução significativa desde o 1º até o 21º dia para o grupo A apresentando os melhores resultados. Para o IG os dois grupos também obtiveram redução significativa durante o experimento assim como para os índices de sangramento sulcular.

Casarin et al.⁵⁵ realizaram ensaios clínicos randomizados duplo-cego sobre os efeitos antibiofilme e antiinflamatório de um enxaguante bucal à base de nanopartículas de *Melaleuca alternifolia* (MEL) contra o enxaguante bucal padrão-ouro, gluconato de clorexidina (CHX) 0.12%. Os testes foram realizados com sessenta voluntários sistemicamente saudáveis divididos em dois grupos com as eficácias dos enxaguantes avaliadas sobre biofilme livre e superfícies bucais cobertas por biofilme. Todos receberam profilaxia profissional e instruções de higiene bucal para o controle manual do biofilme durante o período pré-experimento. Após o 3º dia, foi coletado o Fluido Crevicular Gengival (GCF) dos participantes e todos foram designados aleatoriamente para os experimentos. Os participantes receberam enxaguatório bucal e foram instruídos a enxaguar com 15 ml durante sessenta segundos duas vezes/dia com doze horas de intervalo a cada enxague, sem realizar nenhuma medida adicional de higiene bucal. No 7º dia, o GCF foi coletado novamente todos receberam profilaxia profissional abrangente e instruções para retomar seus hábitos de higiene orais normais. Por ser um estudo em crossover os participantes foram instruídos a retornar após vinte e um dias e o estudo foi repetido com o outro produto e a cooperação de cada um foi medida pela quantidade de enxaguante presente nas garrafas devolvidas. Como resultados obtidos observou-se que apesar de exibir importantes propriedades anti-inflamatórias, o enxaguante com nanopartículas de MEL 0.3% não foi capaz de inibir a formação do biofilme. Os autores sugerem mais estudos para testar diferentes

protocolos e concentrações de MEL para elucidar sua relevância como alternativa aos compostos artificiais.

Ainda em 2019, Nayak et al.⁵⁶, realizaram ensaios clínicos randomizados controlados por placebo cujo objetivo foi analisar a eficácia antimicrobiana e antioxidante de um enxaguatório bucal feito a partir do extrato da folha de goiaba em pacientes com gengivite crônica. Ao todo sessenta pessoas que atendiam aos critérios definidos pelos pesquisadores (mínimo de vinte e quatro dentes funcionais; presença de gengivite crônica ou severa; idade entre dezoito e quarenta e cinco anos) foram aleatoriamente divididas em três grupos, Grupo A - enxágue bucal com 0,15% de goiaba, Grupo B - enxágue bucal com clorexidina 0,2% (CHX), Grupo C - água destilada (placebo). Todos receberam profilaxias profissionais e foram dispensados e orientados com os bochechos para uso por um período de noventa (90) dias, com avaliações em intervalos de um (1) e três (3) meses para comparação dos parâmetros clínicos e coleta de amostras para análise. Os resultados obtidos não detectaram diferenças estatísticas entre o enxágue bucal feito a partir da folha de goiaba com a clorexidina, implicando na melhoria clínica em ambos os grupos experimentais, podendo essa ser um auxiliar durante a profilaxia oral profissional e uma alternativa fitoterápica para manter a saúde gengival sem as restrições da CHX para uso em longo prazo.

Em 2020, um ensaio clínico randomizado realizado por Žekonis et al.⁵⁷ analisou os efeitos clínicos e biológicos da irrigação semanal supragengival com aerossol de peróxido de hidrogênio 0.5% (H₂O₂) durante seis meses, em trinta e nove pacientes com periodontia crônica e sistemicamente saudáveis. Após o Tratamento Periodontal Não Cirúrgico (TPNC), os pacientes foram divididos em dois grupos: I - grupo controle (TPNC apenas) com dezoito pacientes, e II - grupo teste (TPNC + irrigação supragengival) com vinte e um pacientes. Foram realizadas medições clínicas [Índice de Placa (IP), Índice de Sangramento (IS), Índice Gengival Modificado (IGM)] e microbiológicas no primeiro dia e após três e seis meses do tratamento periodontal não cirúrgico. Durante a pesquisa, quatro pacientes do grupo-teste desistiram do estudo devido a comparecimento irregular, o restante do grupo-teste recebeu a irrigação com uma solução de 200 ml, a 37 °C de peróxido 5%, aerossolizado aplicado nas margens gengivais em um ângulo de 45°. Os resultados demonstraram benefícios significativos para a saúde oral através da redução da inflamação gengival em pacientes do grupo-teste em comparação aos resultados obtidos pelo grupo-controle,

como também se observou redução do IP e do IS após os seis meses do experimento. O peróxido é conhecido por ser efetivo na redução de biofilme, devido sua liberação de bolhas de oxigênio durante a reação de decomposição, porém causa um fenômeno chamado bolhas de cavitação tanto nos tecidos periodontais quanto em tecidos gengivais saudáveis. Os autores sugerem mais estudos para a possível aplicação do aerossol de peróxido de hidrogênio 0.5% como terapia de suporte no tratamento da periodontite

Por último, Godavarthy et al.⁵⁸, analisaram a eficácia do *Coffea canephora* contra bactérias cariogênicas em especial, *S. mutans*. Amostras salivares de 120 pessoas saudáveis entre 18 e 25 anos foram coletadas e divididas em dois grupos (cariosos e não cariosos), as bactérias foram isoladas das amostras e cultivadas em placas MSB para estudos em variadas formulações do café. Foram avaliados 3 (três) diferentes soluções de café coado, com a seguinte relação: 2,2 g de café para 5 ml de leite (1- café coado com açúcar e leite; 2- café coado com leite, sem açúcar; 3- café coado puro). As zonas de inibição foram medidas em milímetros e as diferenças estatísticas foram significativas quando comparados os resultados entre si. Os valores de unidades formadoras de colônias entre os Grupos 1 e 2 não apresentaram diferenças significativas, uma vez que o açúcar favorece o crescimento de *S. mutans* assim como a lactose. A avaliação do Grupo 3 mostrou valores maiores para as zonas de inibição, provando que o café tem efeitos antimicrobianos contra *S. mutans*. Sendo uma das bebidas mais consumidas no mundo e de custo razoável, *Coffea canephora* pode colaborar no desenvolvimento de novos produtos para a manutenção da saúde bucal.

6 CONCLUSÃO

De acordo com a revisão realizada, pode-se concluir que uso de plantas medicinais apresentam resultados significativos na redução da formação do biofilme dental, devido suas propriedades antimicrobianas ou pelo seu potencial antibiofilme frente às bactérias cariogênicas.

Devido ao aumento da resistência aos antibióticos e aos medicamentos como observado hoje em dia parece razoável buscar alternativas aos medicamentos bactericidas ou bacteriostáticos entre os métodos previamente oferecidos como formulações alternativas ou medicinas complementares. Porém ainda serão necessários mais estudos aprofundando a testagem da segurança e efeitos dos compostos naturais.

REFERÊNCIAS

1. Cardoso VM. O microbioma humano [dissertação de mestrado]. Porto: Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde; 2015.
2. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, Knight R. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107(26):11971-5.
3. Varella D. Microbioma humano. Drauzio [acesso em 30 jan 2021]. Disponível em: <https://drauziovarella.uol.com.br/drauzio/artigos/microbioma-humano-artigo/>
4. Silva ASM. Microbioma oral: o seu papel na saúde e na doença [dissertação de mestrado]. Lisboa: Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias; 2016.
5. Llana-Puy C. The rôle of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006; 11(5): E449-55.
6. Marsh PD, Do T, Beighton D, Devine DA. Influence of saliva on the oral microbiota. *Periodontol 2000*. 2015; 70(1): 80–92.
7. Struzycka I. The oral microbiome in dental caries. *Pol J Microbiol*. 2014; 63(2):127- 35.
8. Barbieri DS, Tonial F, Lopez PV, Sales Maia BH, Santos GD, Ribas MO et al. Antiadherent activity of *Schinus terebinthifolius* and *Croton urucurana* extracts on in vitro biofilm formation of *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol*. 2014; 59(9): 887-96.
9. Arweiler NB, Netuschil L. The Oral Microbiota. *Adv Exp Med Biol*. 2016;902:45-60.
10. Emery Pharma [homepage na internet]. Estados Unidos: Emery Pharma: 2017 [acesso 19 jan 2021]. Disponível em: emerypharma.com/solutions/cell-microbiology-services/biofilm-eradication-testin/
11. Mahamuni-Badiger PP, Patil PM, Badiger MV, Patel PR, Thorat-Gadgil BS, Pandit A et al. Biofilm formation to inhibition: Role of zinc oxide-based nanoparticles. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020; 108: 110319.
12. Drotleff B, Roth SR, Henkel K, Calderón C, Schlotterbeck J, Neukamm MA, Lämmerhofer M. Lipidomic profiling of non-mineralized dental plaque and biofilm by untargeted UHPLC-QTOF-MS/MS and SWATH acquisition. *Anal Bioanal Chem*. 2020; 412(10): 2303-14.
13. Janardhanan S, Mahendra J, Girija AS, Mahendra L, Priyadharsini V. Antimicrobial effects of *garcinia mangostana* on cariogenic microorganisms. *J Clin Diagn Res*. 2017; 11(1): ZC19-ZC22.
14. Mohankumar KP, Priya NK, Madhushankari GS. Anti cariogenic efficacy of herbal and conventional tooth pastes a comparative in-vitro study. *J Int Oral Health*. 2013; 5(2): 8-13.

15. Sroussi HY, Epstein JB, Bensadoun R-J, Saunders DP, Lalla RV, Migliorati CA et al. Common oral complications of head and neck cancer radiation therapy: mucositis, infections, saliva change, fibrosis, sensory dysfunctions, dental caries, periodontal disease, and osteoradionecrosis. *Cancer Med.* 2017; 6(12): 2918-31.
16. Gebran MP. Controle químico e mecânico de placa bacteriana. *Tuiuti.* 2002; 26: 45-58.
17. Ditterich RG, Portero PP, Wambier DS, Pilatti GL, Santos FA dos. Hábitos de higiene bucal e o papel da motivação no controle mecânico do biofilme dental. *Odontol Clin Cient.* 2007; 6(2): 123–8.
18. Takarada K, Kimizuka R, Takahashi N, Honma K, Okuda K, Kato T. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral Microbiol Immunol.* 2004; 19(1): 61-4.
19. Lamarque GCC, Méndez DAC, Gutierrez E, Dionisio EJ, Machado MAAM, Oliveira TM et al. Could chlorhexidine be an adequate positive control for antimicrobial photodynamic therapy in- in vitro studies? *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019; 25: 58-62.
20. Torres CRG, Kubo CH, Anido AA, Rodrigues JR. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na Odontologia. *Braz Dent Sci.* 2000; 3(2): 43-52.
21. Cieplik F, Jakubovics NS, Buchalla W, Maisch T, Hellwig E, Al-Ahmad A. Resistance toward chlorhexidine in oral bacteria: is there cause for concern? *Front Microbiol.* 2019; 10: 587.
22. Robertson LD, Phipps KR, Oh J, Loesche WJ, Kaciroti N, Symington JM. Using chlorhexidine varnish to prevent early childhood caries in American Indian children. *J Public Health Dent.* 2013; 73(1): 24-31.
23. Catalán A, Pacheco JG, Martínez A, Mondaca MA. In vitro and in vivo activity of *Melaleuca alternifolia* mixed with tissue conditioner on *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 105(3): 327-32.
24. Newman DJ, Cragg GM, Snader KM. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J Nat Prod.* 2003; 66(7): 1022-37.
25. de Carvalho Bernardo WL, Boriollo MFG, Tonon CC, da Silva JJ, Cruz FM, Martins AL et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles and extracts of *Syzygium cumini* flowers and seeds: Periodontal, cariogenic and opportunistic pathogens. *Arch Oral Biol.* 2021; 125: 105101.
26. Borghi WMMC, Moimaz SAS, Saliba NA. Métodos alternativos para higienização bucal e terapêutica odontológica. *J Health Sci Inst.* 2005; 23(4): 309-14.
27. Peedikayil FC, Sreenivasan P, Narayanan A. Effect of coconut oil in plaque related gingivitis: a preliminary report. *Niger Med J.* 2015; 56(2): 143-7.

28. Bordini EAF, Tonon CC, Francisconi RS, Magalhães FAC, Huacho PMM, Bedran TL et al. Antimicrobial effects of terpinen-4-ol against oral pathogens and its capacity for the modulation of gene expression. *Biofouling*; 2018; 34(7): 815-25.
29. Drumond MRS, Castro RD de, Almeida RVD de, Pereira M do SV, Padilha WWN. Estudo comparativo in vitro da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. *Pesq Bras Odontop Clin Integr*. 2004; 4(1): 33– 8.
30. Dalton SJ, Whiting CV, Bailey JR, Mitchell DC, Tarlton JF. Mechanisms of chronic skin ulceration linking lactate, transforming growth factor-beta, vascular endothelial growth factor, collagen remodeling, collagen stability, and defective angiogenesis. *J Invest Dermatol*. 2007; 127(4): 958-68.
31. BlueM: A diferença no cuidado bucal [acesso em 2021 jan 19] Disponível em: <https://www.bluem.com.br>
32. Mattei BM, Imanishi SAW, de Oliveira Ramos G, de Campos PS, Weiss SG, Deliberador TM: mouthwash with active oxygen (blue®m) reduces postoperative inflammation and pain. *Case Rep Dent*. 2021; 2021: 5535807.
33. Mehta VV, Rajesh G, Rao A, Shenoy R, B H MP. Antimicrobial efficacy of punica granatum mesocarp, nelumbo nucifera leaf, psidium guajava leaf and coffea canephora extract on common oral pathogens: an in-vitro study. *J Clin Diagn Res*. 2014; 8(7): ZC65-8.
34. Ferrazzano GF, Scioscia E, Sateriale D, Pastore G, Colicchio R, Pagliuca C et al. In Vitro Antibacterial Activity of Pomegranate Juice and Peel Extracts on Cariogenic Bacteria. *Biomed Res Int*. 2017; 2017: 2152749.
35. Moreira MR, Souza AB, Soares S, Bianchi TC, de Souza Eugênio D, Lemes DC et al. *ent*-Kaurenoic acid-rich extract from *Mikania glomerata*: in vitro activity against bacteria responsible for dental caries. *Fitoterapia*. 2016; 112: -6.
36. Bonilla DM; Mendoza Y, Moncada Campo E, Murcia O, Rojas AP, Calle J et al. Efecto del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre *Porphyromonas gingivalis* cultivada in vitro. *Rev Colomb Cienc Quim Farm*. 2016; 45(2): 275-87.
37. Janardhanan S, Mahendra J, Girija AS, Mahendra L, Priyadharsini V. Antimicrobial effects of *garcinia mangostana* on cariogenic microorganisms. *J Clin Diagn Res*. 2017; 11(1): ZC19-ZC22.
38. Ariamanesh A, Ariamanesh N, Eslami H, Asgharzadeh M, Zeinalzadeh E, Kafil HS. Synergistic effect of *persica* mouthwash and Iranian ethanolic extract of propolis against biofilm formation of oral pathogens (in vitro study). *Ars Pharm*. 2017; 58(4): 155-61.
39. Bordini EAF, Tonon CC, Francisconi RS, Magalhães FAC, Huacho PMM, Bedran TL et al. Antimicrobial effects of terpinen-4-ol against oral pathogens and its capacity for the modulation of gene expression. *Biofouling*; 2018; 34(7): 815-25.

40. Ramalingam K, Amaechi BT. Antimicrobial effect of herbal extract of *Acacia arabica* with triphala on the biofilm forming cariogenic microorganisms. *J Ayurveda Integr Med.* 2020; 11(3): 322-8.
41. Gutiérrez-Venegas G, Gómez-Mora JA, Meraz-Rodríguez MA, Flores-Sánchez MA, Ortiz-Miranda LF. Effect of flavonoids on antimicrobial activity of microorganisms present in dental plaque. *Heliyon.* 2019; 5(12): e03013.
42. Ribeiro SM, Fratucelli EDO, Bueno PCP, de Castro MKV, Francisco AA, Cavalheiro AJ et al. Antimicrobial and antibiofilm activities of *Casearia sylvestris* extracts from distinct Brazilian biomes against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *BMC Complement Altern Med.* 2019; 19(1): 308.
43. Rai A, Tripathi AM, Saha S, Dhinsa K, Jain B, Yadav G. Comparison of antimicrobial efficacy of four different plant extracts against cariogenic bacteria: an in vitro study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2020; 13(4): 361-7.
44. Sette-DE-Souza PH, Santana CP, Sousa IMO, Foglio MA, Medeiros FD, Medeiros ACD. *Schinopsis brasiliensis* Engl. to combat the biofilm-dependents diseases in vitro. *An Acad Bras Cienc.* 2020; 92(4): e20200408.
45. Guan C, Che F, Zhou H, Li Y, Li Y, Chu J. Effect of rubusoside, a natural sucrose substitute, on streptococcus mutans biofilm cariogenic potential and virulence gene expression in vitro. *Appl Environ Microbiol.* 2020; 86(16): 1012-20.
46. Srinagesh J, Krishnappa P, Somanna SN. Antibacterial efficacy of triphala against oral streptococci: an in vivo study. *Indian J Dent Res.* 2012; 23(5): 696.
47. Mohankumar KP, Priya NK, Madhushankari GS. Anti cariogenic efficacy of herbal and conventional tooth pastes a comparative in-vitro study. *J Int Oral Health.* 2013; 5(2): 8-13.
48. Pedrazzi V, Leite MF, Tavares RC, Sato S, do Nascimento GC, Issa JP. Herbal mouthwash containing extracts of *Baccharis dracunculifolia* as agent for the control of biofilm: clinical evaluation in humans. *ScientificWorldJournal.* 2015; 2015: 712683.
49. Goes P, Dutra CS, Lisboa MR, Gondim DV, Leitão R, Brito GA, Rego RO. Clinical efficacy of a 1% *Matricaria chamomile* L. mouthwash and 0.12% chlorhexidine for gingivitis control in patients undergoing orthodontic treatment with fixed appliances. *J Oral Sci.* 2016; 58(4): 569-74.
50. Niedzielska I, Puszczewicz Z, Mertas A, Niedzielski D, Rózanowski B, Baron S et al. The Influence of ethanolic extract of Brazilian green propolis gel on hygiene and oral microbiota in patients after mandible fractures. *Biomed Res Int.* 2016; 2016: 9190814.
51. Baratakke SU, Raju R, Kadanakuppe S, Savanur NR, Gubbihal R, Kousalaya PS. Efficacy of triphala extract and chlorhexidine mouth rinse against plaque accumulation and gingival inflammation among female undergraduates: a randomized controlled trial. *Indian J Dent Res.* 2017; 28(1): 49-54.

52. Briso A, Silva Ú, Souza M, Rahal V, Jardim Júnior E, Cintra L. A clinical, randomized study on the influence of dental whitening on *Streptococcus mutans* population. *Aust Dent J.* 2017; 63(1):94–8.
53. Sushma R, Sathe TT, Farias A, Sanyal PK, Kiran S. Nature cures: an alternative herbal formulation as a denture cleanser. *Ann Afr Med.* 2017; 16(1): 6-12.
54. Siddeshappa ST, Bhatnagar S, Yeltiwar RK, Parvez H, Singh A, Banchhor S. Comparative evaluation of antiplaque and antigingivitis effects of an herbal and chlorine dioxide mouthwashes: a clinicomicrobiological study. *Indian J Dent Res.* 2018; 29(1): 34-40.
55. Casarin M, Pazinato J, Oliveira LM, Souza ME de, Santos RCV, Zanatta FB. Anti- biofilm and anti-inflammatory effect of a herbal nanoparticle mouthwash: a randomized crossover trial. *Braz Oral Res.* 2019; 33: e062.
56. Nayak N, Varghese J, Shetty S, Bhat V, Durgekar T, Lobo R et al. Evaluation of a mouthrinse containing guava leaf extract as part of comprehensive oral care regimen- a randomized placebo-controlled clinical trial. *BMC Complement Altern Med.* 2019; 19(1): 327.
57. Žekonis G, Šadzevičienė R, Balnytė I, Noreikienė V, Šidlauskaitė GM, Šadzevičiūtė E, Žekonis J. Clinical and microbiological effects of weekly supragingival irrigation with aerosolized 0.5% hydrogen peroxide and formation of cavitation bubbles in gingival tissues after this irrigation: a six-month randomized clinical trial. *Oxid Med Cell Longev.* 2020; 2020: 3852431
58. Godavarthy D, Naik R, Gali PK, Ahmed Mujib BR, Baddam VRR. Can coffee combat caries? an in vitro study. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2020; 24(1): 64-7.

ANEXO A – CERTIFICADO BOLSA PIBIC – CNPQ

**unesp**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"**Certificado**

Certifico que **Maria Fernanda Rath Rodrigues**, portador do CPF número 111.016.146-84, realizou iniciação científica na Modalidade **Bolsa PIBIC - CNPq**, no período de 01/09/2020 a 31/08/2021, na Unesp, Faculdade de Odontologia de Araraquara, sob a supervisão Professor(a) Denise Madalena Palomari Spolidorio, ao desenvolver o projeto intitulado "**Avaliação da eficácia antimicrobiana do Blue M® sobre microrganismo cariogênico.**"

São Paulo, 30 de novembro de 2022

Edson Cocchieri Botelho
Pró-Reitor de Pesquisa
Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho"

ANEXO B – CERTIFICADO SUBMISSÃO DO ARTIGO NO XXXIII CIC

Verifique o código de autenticidade 3896617.3900401.591281.6.51339481227290196593 em <https://www.even3.com.br/documentos>



Certificamos que o trabalho intitulado **“Avaliação da eficácia antimicrobiana do Blue M® sobre microrganismo cariogênico”** de autoria de Maria Fernanda Rath Rodrigues e Denise Spolidorio, foi submetido no evento **XXXIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp - FO/Araraquara**, realizado em 11/11/2021, na cidade de Araraquara.

Araraquara, 11 de novembro de 2021

XXXIII Congresso de Iniciação
Científica da Unesp