



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LAVRAS

LARISSA CHAGAS CARDOSO ALVES

**ENXAGUANTES BUCAIS CONTENDO ÓLEO E EXTRATO DE
Cinnamomum zeylanicum (CANELA): DESENVOLVIMENTO,
CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO- QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

LAVRAS-MG

2021



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LAVRAS

LARISSA CHAGAS CARDOSO ALVES

**ENXAGUANTES BUCAIS CONTENDO ÓLEO E EXTRATO DE
Cinnamomum zeylanicum (CANELA): DESENVOLVIMENTO,
CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO- QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Projeto de Monografia apresentado ao Centro Universitário de Lavras como parte das exigências do curso de graduação em Odontologia. Orientadora: Profa. Dra. Mirelle Oliveira Sóter França.

LAVRAS-MG

2021

LARISSA CHAGAS CARDOSO ALVES

**ENXAGUANTES BUCAIS CONTENDO ÓLEO E EXTRATO DE
Cinnamomum zeylanicum (CANELA): DESENVOLVIMENTO,
CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO- QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIBACTERIANA**

Projeto de Monografia apresentado ao Centro Universitário de Lavras como parte das exigências do curso de graduação em Odontologia.

APROVADO EM: 28/10/2021

ORIENTADORA

Profa. Dra. Mirelle Oliveira Sóter França/Centro Universitário de Lavras

MEMBRO DA BANCA

Profa. Dra. Renata de Carvalho Foureaux/Centro Universitário de Lavras

LAVRAS-MG

2021

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível devido a colaboração de várias pessoas e equipes. Agradeço a Deus pela vida e à minha família por sempre acreditarem no meu potencial. Trago minha gratidão em especial, à professora Dra. Mirelle Oliveira Sóter França, que me orientou sabiamente ao longo de todos os testes, e à equipe dos laboratórios do Centro Universitário de Lavras por todo o amparo.

*“Comece fazendo o que é necessário,
depois o que é possível,
e de repente
você estará fazendo o impossível.”*

São Francisco de Assis

(1182-1226)

RESUMO

Introdução: Óleos voláteis e extratos obtidos a partir de galhos e cascas de canela tem (acento) revelado um potencial antimicrobiano efetivo, sendo utilizado na preparação de fórmulas caseiras de antissépticos bucais; no entanto, há carência de estudos que enfoquem a análise antibacteriana in vitro e, principalmente, análise de formulações contendo este fitoterápico. **Objetivo:** desenvolver enxaguantes bucais contendo óleo e/ou extrato de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) visando, futuramente, utilizá-los na prevenção da cárie. **Metodologia:** Foram preparados extratos alcoólico, hidroalcoólico e aquoso a 30%, usando a casca da canela. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação e amostras também foram adquiridas no comércio local. Os extratos brutos, óleos e suas diluições foram testados frente a *Streptococcus mutans* (ATCC25175), pelo método de difusão em ágar BHI. Como controle positivo e negativo foram usados, respectivamente, clorexidina 0,12% e os diluentes usados para obtenção/diluição dos extratos e óleo. Após determinação da concentração inibitória mínima (CIM), foram preparados enxaguantes nas concentrações ativas; óleo extraído 1% (F1), 0,1% (F2), 0,01% (F3), 0,001% (4) e óleo comprado 0,01 (F5) e 0,001 (F6); que foram avaliados quanto a atividade antibacteriana e qualidade macroscópica e físico-química. As formulações 7 (isenta de óleo e extrato) e 8 (clorexidina a 0,12%) foram usadas como controle negativo e positivo, respectivamente. **Resultados:** As formulações apresentaram-se estáveis, não houve separação de fases, entretanto apenas as Formulação 1 (óleo 1%) e 8 (controle positivo) foram ativas frente a cepa testada. Logo, foram preparadas novas formulações com óleo extraído 1% (F9); óleo extraído 1% + 5 ml de extrato hidroalcoólico (F10); óleo comprado 1% (F11) e óleo comprado 1% + 5ml de extrato (F12) para testar possível efeito sinérgico. Elas permaneceram estáveis e sem separação de fases, contudo, não apresentaram resultados sobre a cepa da bactéria. **Conclusão:** O óleo essencial de canela apresenta atividade antibacteriana sobre *Streptococcus mutans*, sendo potencial candidato para prevenção de cárie; entretanto, apenas o enxaguante com óleo extraído a 1% apresentou atividade sobre a cepa testada.

Palavras chave: Antissépticos bucais, Cárie dentária, *Cinnamomum zeylanicum*.

ABSTRACT

Introduction: Essential oils and extracts obtained from branches and cinnamon bark have revealed an effective antimicrobial potential, being used in the preparation of homemade formulas of mouthwashes; however, there is a lack of studies that focus on in vitro antibacterial analysis and, mainly, on the analysis of formulations containing this herbal medicine. **Objective:** to develop mouthwashes containing oil and/or extract of *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon) with a view to using them in the future to prevent caries. **Methodology:** 30% alcoholic, hydroalcoholic and aqueous extracts were prepared using cinnamon bark. The essential oil was extracted by hydrodistillation and samples were also purchased from the local market. Crude extracts, oils and their dilutions were tested against *Streptococcus mutans* (ATCC25175), by the BHI agar diffusion method. As positive and negative controls, 0.12% chlorhexidine and the diluents used to obtain/dilution of extracts and oil were used, respectively. After determining the minimum inhibitory concentration (MIC), rinses were prepared at active concentrations; extracted oil 1% (F1), 0.1% (F2), 0.01% (F3), 0.001% (4) and purchased oil 0.01 (F5) and 0.001 (F6); which were evaluated for antibacterial activity and macroscopic and physicochemical quality. Formulations 7 (free of oil and extract) and 8 (0.12% chlorhexidine) were used as negative and positive controls, respectively. **Results:** The formulations were stable, there was no phase separation, however only Formulations 1 (1% oil) and 8 (positive control) were active against the strain tested. Therefore, new formulations were prepared with 1% extracted oil (F9); 1% extracted oil + 5 ml of hydroalcoholic extract (F10); 1% purchased oil (F11) and 1% purchased oil + 5ml of extract (F12) to test for possible synergistic effect. They remained stable and without phase separation, however, they did not show results on the bacterial strain. **Conclusion:** Cinnamon essential oil has antibacterial activity on *Streptococcus mutans*, being a potential candidate for caries prevention; however, only the rinse with 1% oil extracted showed activity on the strain tested.

Keywords: Mouthwashes, Dental Caries, *Cinnamomum zeylanicum*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulações dos enxagatórios bucais.....	28
Tabela 2 – Média dos halos de inibição óleo essencial de canela, e suas diluições, sobre <i>Streptococcus mutans</i>	32
Tabela 3 -- Densidade e pH das formulações.....	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Teste de Susceptibilidade frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	33
Figura 2 - Aspectos transparente verificado na análise macroscópica das formulações.....	34
Figura 3 - Teste de Susceptibilidade frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3 REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1 Uso de plantas medicinais na odontologia.....	15
3.2 Canela.....	18
3.3 Cárie e microrganismos associados.....	19
3.3.1 Cárie.....	19
3.3.2 <i>Streptococcus mutans</i>	21
3.4 Enxaguantes Bucais.....	22
3.5 Controle da qualidade de cosméticos.....	26
4 MATERIAIS E METODOS	27
4.1 Obtenção do óleo essencial, do material botânico e produção do extrato..	27
4.2 Concentração Inibitória Mínima.....	27
4.3 Preparo dos enxaguantes bucais.....	28
4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana.....	29
4.4.1 Preparo das suspensões bacterianas.....	29
4.4.2 Padrão de sensibilidade frente a <i>Streptococcus mutans</i>	29
4.5 Testes físico-químicos.....	30
4.5.1 Análise macroscópica	30
4.5.2 Análise do pH	30
4.5.3 Análise da densidade	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 Resultados.....	32
5.2 Discussão.....	37
6 CONCLUSÕES	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1 INTRODUÇÃO

No passado, a cárie como doença era considerada infecciosa e transmissível, por estar relacionada a microrganismos e à possibilidade de estes serem transferidos via saliva de um indivíduo ao outro. Atualmente, sabe-se que os microrganismos podem ser transferidos, mas não significa que a doença seria transmitida, uma vez que, a cárie dentária tem uma forte causa comportamental, influenciada por questões sociais (MAGALHÃES et al., 2020).

Os danos causados pela cárie podem ser reparados, em muitas situações, pela restauração do (s) elemento (s) afetado (s), mediante a correta execução da técnica restauradora e a escolha do material mais adequado para o caso, levando-se em consideração fatores como extensão do processo carioso, localização da lesão, hábitos parafuncionais do paciente, entre outros. Assim, a prevenção é a melhor alternativa visto o custo envolvido no processo de restauração e os riscos de complicações a saúde bucal (BARATIERI et al., 2002; ARAÚJO et al., 2017).

Os métodos de controle da cárie devem ser criteriosos e baseados tanto do âmbito público quanto privado. A odontologia minimamente invasiva tem como grande desafio afastar-se do foco estreito de uma abordagem restauradora, orientada pelo gerenciamento de cavidades dentárias, para uma que aborde novas estratégias de prevenção e de gerenciamento dos fatores envolvidos na doença (MAGALHÃES et al., 2020)

Tendo em consideração a limitação dos métodos mecânicos de higiene e a eficácia farmacológica dos agentes antimicrobianos visando a prevenção e o tratamento de infecções orais, é que surgiram no mercado os antissépticos bucais, também conhecidos como colutórios ou enxaguatórios (ANDRADE et al., 2011). Estes agentes químicos agem como complementos à remoção mecânica do biofilme dentário em indivíduos que apresentam alto risco de desenvolver cárie e doença periodontal (MONTENEGRO; CRUZ, 2013).

Os enxaguatórios são constituídos por uma mistura contendo o componente ativo, frequentemente, antimicrobiano, água e/ou álcool, surfactantes, umectantes e flavorizantes (TORRES et al., 2000; RANDON; FATAHZADEH, 2015). Vale lembrar que nenhum produto disponível no mercado possui todos os requisitos para um antisséptico ideal, que seria: estabilidade, baixa tensão superficial, poder germicida

e letal em baixas concentrações, ausência de toxicidade e poder de penetração (MONFRIN; RIBEIRO, 2000, BARBOSA et al., 2017).

A abrangência da utilização das plantas medicinais é vasta e engloba fins variados, sobretudo em relação à saúde bucal (CORDEIRO et al., 2006). Com o importante crescimento mundial da fitoterapia dentro de programas preventivos e curativos tem-se estimulado a avaliação da atividade de diferentes extratos de plantas para o controle do biofilme dental (GUYOT, 1990; OSAWA et al., 1990, ALELUIA et al., 2015).

Apesar dos esforços e do amplo entendimento sobre a cárie dental, esta continua bastante prevalente em determinados segmentos da população. A doença apresenta etiologia multifatorial, com a dieta e os microrganismos envolvidos desenvolvendo papéis fundamentais; sendo *Streptococcus mutans* fundamental em seu início e ubíquo em crianças a partir dos sete anos de idade (ARAÚJO et al., 2017).

A *Cinnamomum zeylanicum*, conhecida popularmente como canela, foi avaliada ao longo do tempo como detentora de algumas propriedades biológicas importantes. Dentre o sugerido pela literatura, estão o seu uso como analgésico, antisséptico, antipasmódico, adstringente, inseticida e antimicrobiano (REIS, TOURINO, FERREIRA, 2015).

A escolha da canela deve-se ao fato desta apresentar-se em várias regiões do país, ser barata e ter uso popular para a finalidade pretendida (antisséptico bucal), havendo necessidade da avaliação de enxaguantes bucais contendo óleo e/ou extrato de canela como princípio ativo visando uso futuro na prática preventiva da cárie.

Segundo Trajano et al. (2010), óleos essenciais obtidos a partir de galhos e cascas de canela tem revelado um potencial antimicrobiano efetivo. No entanto há carência de estudos que enfoquem não só a análise microbiana in vitro frente a *Streptococcus mutans*, mas também a preparação de formulações fundamentadas na literatura. Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar as características físico-químicas e o potencial microbiológico de enxaguantes bucais contendo óleo essencial e extratos de *Cinnamomum zeylanicum* frente *Streptococcus mutans*, a principal bactéria causadora da cárie, e compará-los a formulação contendo clorexidina 0,12%, principal substância utilizada em antissépticos comerciais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este estudo visou desenvolver enxaguantes bucais contendo extratos e/ou óleo de canela como princípio ativo, descrevendo os componentes antissépticos que os interagem e avaliando sua eficácia antibacteriana.

2.2 Objetivos específicos

- Confeccionar extrato hidroalcoólico de canela;
- Produzir formulações de enxaguantes bucais contendo extrato e/ou óleo de canela;
- Desenvolver um enxaguante bucal contendo clorexidina 0,12% (encontrado em enxaguantes comerciais) para compará-lo as formulações que apresentem extrato e/ou óleo de canela;
- Avaliar a atividade antibacteriana das formulações frente a *Streptococcus mutans*;
- Avaliar a qualidade físico-química das formulações (controle de qualidade).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Uso de plantas medicinais na odontologia

Nos séculos de colonização a utilização de plantas medicinais para tratamento das patologias era patrimônio somente dos índios e de seus pajés (ELDIN; DUNFORD, 2001). A população em geral utilizava medicamentos provenientes de importações, especialmente da Europa. Não existia, ademais, um conhecimento em relação ao correto armazenamento das plantas, a fim de preservar suas propriedades medicinais, ou seja, seus princípios ativos (MARTINS; CASTRO; CASTELLANI, 2000).

Muito tempo foi necessário para que as plantas medicinais do território brasileiro, usadas pelos estrangeiros para tratamento das mais diversas patologias, fossem conhecidas mundialmente. Muitos extratos já eram utilizados em território nacional, desde os primeiros séculos de colonização, para o tratamento de nosologias locais, e, em sua maioria, os medicamentos utilizados eram fitoterápicos (ELDIN; DUNFORD, 2001).

A fitoterapia enquanto prática terapêutica integrativa, associada ou não ao tratamento convencional traz inúmeros benefícios e uma dimensão mais humanizada e integral do paciente. Resgata sua condição histórico-cultural, contribui para a valorização do indivíduo como agente de sua própria história. Nesse novo paradigma o foco principal deixa de ser a doença e sim o doente em toda sua plenitude que é colocado no centro do cuidado (LIMA, 2009).

O uso tradicional de plantas medicinais tem base histórica longa, e são amplamente reconhecidos como seguros e eficazes. A sua atividade abrange terapêutica bem-sucedida de prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças físicas e mentais trazendo o equilíbrio ao organismo (BRASIL, 2006).

O alto custo dos procedimentos e tratamentos faz com que os usuários do sistema público de saúde, procurem meios alternativos e complementares em seu tratamento, especialmente o uso das plantas medicinais e fitoterápicos nas mais diversas situações em que sua saúde está comprometida. Aliado a isso e até mesmo percebendo essa inclinação natural do indivíduo para utilizar esse recurso terapêutico, existe toda uma indústria de produtos “ditos naturais” por traz desta

propaganda, algumas de origem duvidosa, que exploram este nicho de mercado (SILVEIRA., 2008; VEIGA JÚNIOR, 2008; STAINESS, 2011).

Entretanto, vale lembrar que a planta medicinal utilizada em medicamentos é um xenobiótico, seus produtos de biotransformação são estranhos ao organismo humano. Isso implica em uma série de cuidados e orientações para se conduzir um tratamento onde se utiliza fitoterápicos (SILVEIRA, 2008).

As populações carentes sofrem sérias barreiras para acessar aos serviços de saúde e, nesses casos, as plantas são importantes fontes de produtos naturais e um excelente recurso terapêutico para tratamentos e manutenção da saúde, além da grande relevância socioeconômica nessas comunidades (RIBEIRO et al., 2015).

Para Lorenzi e Matos (2002), as preocupações com a biodiversidade e as ideias de desenvolvimento sustentável despertaram interesse no uso das plantas. Neste trabalho, e também no realizado por Matsuda e Negraes (2002), relata-se que a população busca uma melhor qualidade de vida, com métodos mais naturais e saudáveis para a manutenção da saúde. Além disso, o interesse na utilização de plantas medicinais decorre também do alto custo dos medicamentos industrializados, da crise econômica e da falta de acesso à assistência médica e farmacêutica, fatores que geram a procura dos consumidores por utilizar produtos naturais (LEITE SN; 2000).

Apesar de a Fitoterapia já ser amplamente utilizada na área médica, sua aplicação na Odontologia ainda é modesta. Segundo Catão et al. (2012) poucos estudos clínicos sobre a ação das plantas medicinais nas afecções bucais são encontrados; sendo as plantas mais estudadas a romã e a babosa. Segundo o mesmo autor a maioria dos estudos apresentam resultados satisfatórios, sendo uma opção para tratamento das diversas afecções bucais.

Considerando-se a Classificação CID-10 Odontológica (OMS, 1996) destacaram-se com maior número de opções terapêuticas as indicações de fitoterápicos para dermatite vesicular pelo vírus do herpes simples, para gengivite e doenças periodontais, inflamação da mucosa bucal e os antissépticos bucais (MONTEIRO, FRAGA, 2015).

A adição de plantas medicinais aos dentifrícios e enxaguantes bucais também já é realidade, sendo que extratos de plantas são testados em estudos científicos com objetivo de avaliar seu potencial de redução da atividade de microrganismos comensais da cavidade bucal (MOLINA et al., 2008).

O reconhecimento dessa ciência como uma prática integrativa e complementar à saúde bucal foi um grande passo para regulamentar a atuação dos cirurgiões dentistas em uma área ainda pouco explorada. Apesar do medicamento natural ter boa aceitação popular no Brasil e apresentar boas perspectivas no mercado, estes só podem ser comercializados mediante a realização de estudos laboratoriais e clínicos que comprovem sua eficácia na área odontológica. Esse fato aguçou o interesse pela realização de pesquisas na área da Fitoterapia odontológica, com a proposta de desenvolvimento de medicamentos com menor toxicidade, melhor biocompatibilidade e que possam ser usados na terapêutica de odontalgias e afecções bucais (CECHINEL, 2000; FRANCISCO, 2010; ALELUIA, 2015).

As afecções odontológicas são evidenciadas por sinais e sintomas característicos de diversas doenças, dentre elas as mais comuns são as lesões de cáries, gengivite, estomatite aftosa, herpes simples e candidose. Nesse contexto, a Fitoterapia surge como alternativa de interesse para a complementação do tratamento, sendo que já foram encontradas 132 espécies de plantas capazes de auxiliar no tratamento dessas afecções. Sabe-se, porém que a maioria dessas espécies não apresentam testes clínicos que comprovem sua eficácia, sendo embasadas apenas em pesquisas científicas laboratoriais; sendo o cravo-da-índia, a camomila, a malva, a romã, a unha-de-gato e o própolis possuem ação consubstanciada por testes clínicos e laboratoriais e estão entre os fitoterápicos mais utilizados em Odontologia (OLIVEIRA, 2007; ALELUIA, 2015).

Para Gomes et al. (2020), a fitoterapia vem ganhando espaço na odontologia por apresentar produtos naturais com grande potencial terapêutico, menor toxicidade e melhor biocompatibilidade, comprovadas pela ciência, quando comparados aos medicamentos convencionais, além de revelar custos mais acessíveis à população.

Enfim, as dificuldades do uso da Fitoterapia na rotina clínica relacionam-se com vários aspectos como a falta de capacitação dos profissionais, dificuldade de acesso às plantas medicinais/fitoterápicos, entre outros. No entanto, a área oferece possibilidades nas áreas do conhecimento, pesquisa, desenvolvimento e inovação, cujo resultado será benéfico para a população como um todo, seja na utilização direta do recurso terapêutico, ou ainda, através do aperfeiçoamento tecnológico para

a sociedade (MONTEIRO, FRAGA, 2015); evidenciando a importância do presente estudo.

3.2 Canela

Conhecida desde 2.500 a.c a canela pertence à família Lauraceae, existindo aproximadamente 250 espécies distribuídas na China, Índia e Austrália (JAYAPRAKASHA, 2003). A casca e as folhas de *Cinnamomum spp.* são utilizadas como especiarias em cozinhas domésticas e seus óleos essenciais, destilados ou análogos sintéticos, são utilizados como agente aromatizante na indústria alimentar e de bebidas (JHAM et al. 2005; SOUSA, 2011).

Existem praticamente duas espécies de canela de extração comercial, a *C. cassia* chamada de canela-da-china e a *C. zeylanicum*, conhecida como canela-de-java ou simplesmente canela. A canela-da-china é mais aromática, de sabor e aroma 2 vezes mais intenso, e pode ser utilizada em quantidades menores (JHAM et al. 2005).

Lima et al. (2005) identificaram 23 constituintes no óleo essencial obtido de folhas de canela, sendo o eugenol o composto que apresentou maior percentual (60%). A partir de galhos foram identificados 36 compostos com predominância de monoterpenos α e β -pineno, α -felandreno, p -cimeno, limoneno, linalol, sequiterpenos α -copaeno, β -cariofileno, óxido de cariofileno e os alilbenzenos ϵ -cinamaldeído e aceto de ϵ -cinamila. Tabak, Neeman e Armon (1999), afirmam que os principais princípios ativos da canela são cinamaldeído, limoneno e eugenol. A casca seca da canela contém, no mínimo, 1,2% de óleo volátil contendo, no mínimo, 60% de trans-cinamaldeído (BRASIL, 2010).

A canela possui propriedades antimicrobiana, atividade antifúngica e antidiabética, além disso, ela é estimulante de apetite e digestiva. (TABAK, ARMON, NEEMAN 1999; LIMA et al., 2005).

Este fitoterápico vem sendo estudado por muitos anos na saúde humana. Os extratos da canela melhoram a função dos receptores da insulina, através do receptor insulinoquinase e uma inibição do receptor insulino fosfatase, levando ao aumento do reconhecimento da insulina pelo receptor (NEGRI, 2005). Khan et al. (2003) observaram que em um grupo de pacientes o tratamento com canela melhorou significativamente os níveis séricos de glicose e o perfil lipídico.

Os benefícios da canela para a saúde podem ser obtidos sob a forma de sua casca pura, óleos essenciais, na forma de especiarias molhadas ou na forma de extrato quando seus compostos fenólicos especiais, flavonóides e antioxidantes, estão isolados. Esses compostos tornam a canela uma das especiarias mais benéficas da Terra, dando-lhe habilidades antioxidantes, anti-inflamatórias, anti-diabéticas, antimicrobianas, de imunidade, câncer e doenças cardíacas (ANDRADE et al., 2012).

Segundo Trajano et al. (2010), óleos essenciais obtidos a partir de galhos e cascas de canela têm revelado um potencial antifúngico efetivo. No entanto, os mesmos autores destacam a carência de estudos que enfoquem não só a análise microbiana in vitro, mas também formulações fundamentadas na literatura, cujo comportamento passe a ser avaliado no organismo vivo a partir de ensaios clínicos.

3.3 Cárie e microrganismos associados

3.3.1 Cárie

A cárie é uma doença com determinantes biológicos claros e acontece quando o dente é exposto a uma dieta rica em açúcares sendo combinada a presença de microrganismos cariogênicos. Essa exposição causa a disbiose do biofilme, um desequilíbrio que leva ao início da lesão cariosa (MAGALHÃES et al., 2020).

Como definido por Pitts et al. (2017) a cárie é uma doença multifatorial, mediada por biofilme, que origina processos de desmineralização e remineralização dos tecidos dentários, resultando na modificação dentária. Além disso, é uma doença influenciada por vários fatores de risco como o estilo de vida e aspectos socioeconômico-culturais (MAGALHÃES et al., 2020).

Entre as patologias infecciosas mais comuns da cavidade bucal se destaca a cárie dental, e sua patogenicidade está intimamente relacionada ao metabolismo microbiano altamente fermentativo, destacando os estreptococos do grupo mutans, particularmente, *Streptococcus mutans* junto com *Lactobacillus spp.*, e quando alcança a dentina, *Actinomyces spp* (LEITES, PINTO E SOUSA, 2006).

A cárie dentária é uma doença microbiana decorrente de um desequilíbrio da microbiota bucal em relação às funções imunológicas e/ou fisiológicas do hospedeiro, sendo frequentemente desencadeada por fatores ambientais, como uma

dieta rica em sacarose. Nessa doença, microrganismos patogênicos (cariogênicos) presentes em pequena quantidade na microbiota de pessoas saudáveis, aumentam extraordinariamente em proporção e causam a desmineralização progressiva das estruturas dentais, seguida da destruição permanente dos tecidos dentários a partir de produtos do seu metabolismo fermentativo (SILVA et al., 2017).

Os estreptococos do grupo mutans considerados cariogênicos, destacam-se pela capacidade de colonizar precocemente a superfície dental, por sintetizar grandes quantidades de polímeros de carboidratos extra e intracelulares, que estabilizam a adesão bacteriana e funcionam como fontes de reservas nutritivas (HAMADA et al., 1984; SALAMANCA, 2017). Bactérias produtoras de ácido láctico, como *Lactobacillus spp.* aparecem mais relevantes após o início do processo carioso seguido da contínua dissolução mineral do dente (LEITES, PINTO E SOUSA, 2006).

A remoção destes microrganismos da superfície dentária só é possível por meio da fricção mecânica, mas pode-se prevenir sua presença no biofilme dentário através da utilização de antissépticos, sendo a clorexidina a mais utilizada na Odontologia. Por esta última não ser isenta de efeitos adversos e seu uso prolongado causar manchas, atualmente, vêm-se estudando produtos alternativos, dentre os quais alguns agentes fitoterápicos (ARAÚJO et al., 2015).

Em caso de cárie de dentina, na região cervical ou quando a cárie coronária ultrapassa em profundidade o esmalte dental, observa-se uma população microbiana mais complexa, com a presença de bactérias com grande atividade proteolítica, como *Actinomyces spp.* (ZAMBON & KASPRZAK, 1995; SILVA et al., 2017). Finalmente, com o envolvimento dos tubos dentinários e do sistema de canais, a microbiota acidogênica inicial será substituída por microrganismos anaeróbios e proteolíticos, e este fenômeno se mantém e se intensifica até a necrose da polpa e o envolvimento de tecidos periapicais (SALAMANCA, 2017).

O controle do biofilme é de fundamental importância na prevenção da cárie dentária e da doença periodontal, pois o mesmo é o principal fator etiológico destas doenças bucais (MOREIRA et al., 2007). A temática higienização bucal compreende um amplo e complexo histórico de prevenção de doenças bucais nas mais diversas classes de pessoas; principalmente naqueles indivíduos que possuem pouco ou nenhum acesso a informação sobre prevenção ou até mesmo aqueles que possuem o acesso, mas não têm interesse de prezar por sua saúde bucal (MONTE et al., 2015).

Os hábitos de higiene oral fazem parte dos costumes desde a antiguidade, onde a escovação isolada é insuficiente, pois não remove a placa interdental, necessitando do uso de dispositivos interproximais (MARTINS, SILVA, NEPOMUCENO, 2003; CRUZ et al., 2015). Assim, tendo em consideração a limitação dos métodos mecânicos de higiene e a eficácia farmacológica dos agentes antimicrobianos visando a prevenção e o tratamento de infecções orais, é que surgiram no mercado os antissépticos bucais, também conhecidos como colutórios ou enxaguatórios (ANDRADE et al., 2011).

Os danos causados pela cárie podem ser reparados, em muitas situações, pela restauração do (s) elemento (s) afetado (s), mediante a correta execução da técnica restauradora e a escolha do material mais adequado para o caso, levando-se em consideração fatores como extensão do processo carioso, localização da lesão, hábitos parafuncionais do paciente, entre outros. Entretanto, a prevenção é a melhor alternativa visto o custo envolvido no processo de restauração e os riscos de complicações a saúde bucal (BARATIERI et al., 2002; ARAÚJO et al., 2017).

3.3.2 *Streptococcus mutans*

Os estreptococos são microrganismos que se dividem em apenas um plano e, como suas células não se separam facilmente após a multiplicação, tendem a formar cadeias. Constituem a principal população de microrganismos da cavidade bucal, além de estarem envolvidos em diversos processos patológicos (SPOLIDORIO; DUQUE, 2013)

A espécie *S. mutans* possui como habitat primário a dentição humana e, após adquirirem sua colonização estável nos primeiros anos de vida, são encontradas na saliva, na língua e nos demais sítios anatômicos da cavidade bucal, persistindo por longos períodos. Esta bactéria e outras espécies dos biofilmes podem atingir a corrente sanguínea durante a escovação dentária ou procedimentos odontológicos, causando bacteremias transitórias. Acredita-se que *S. mutans* apresente fatores de escape ao sistema imune por sobreviver longos períodos na corrente sanguínea, podendo gerar problemas sistêmicos como endocardite infecciosa ou aterosclerose. Isso ocorre, em parte, porque *S. mutans* produz adesinas que se ligam a componentes da matriz extracelular de tecido lesionado, como laminina, colágeno, fibronectina e elastina, e induz agregação plaquetária associada à formação de

vegetações semelhantes a biofilmes sobre esses tecidos (SPOLIDORIO; DUQUE, 2013).

Este microrganismo apresenta alto potencial de cariogenicidade pela capacidade de colonizar superfícies não descamativas, como a estrutura dentária e materiais restauradores. Além disso, *S. mutans* é capaz de armazenar carboidratos na forma de polissacarídeos extracelulares, os quais contribuem para a formação de um biofilme espesso, bem como polissacarídeos intracelulares, usados em momentos de baixa oferta de carboidratos no meio. Tal microrganismo também apresenta capacidade acidúrica, isto é, sobrevive em pH ácido, e acidogênica, sendo capaz de produzir ácido láctico, responsável pela desmineralização no início do desenvolvimento da cárie (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1994).

Diante do cessar da metabolização do açúcar e normalização do pH, ocorre restabelecimento da supersaturação com certo ganho de mineral perdido (ganho esse inferior à perda). O esmalte dentário e a dentina sofrem dissolução com pH igual ou menor a 5,5 e 6,5, respectivamente (LLENA-PUY, 2006). Contínuas repetições de perda mineral acabam por ultrapassar a capacidade dos fluidos orais de reparar tal perda. Deste modo, a doença começa a manifestar-se através de lesões de mancha branca, que resultam do aumento da porosidade e perda de translucidez do esmalte, seguidas por processos de cavitação (FEJERSKOV; KIDD; 2005).

3.4 Enxaguantes bucais

Para o controle do biofilme dental e das patologias decorrentes da sua presença, diversos métodos são propostos: os recursos mecânicos e químicos, ou através do controle da dieta. O controle mecânico representa o método mais valioso utilizado na prevenção e remoção do biofilme e consiste na escovação e no uso do fio dental. Porém, nem sempre é realizado adequadamente. Desse modo, diversas substâncias têm sido utilizadas para o controle químico da placa bacteriana, como adjutórias aos procedimentos mecânicos (MONFRIN; RIBEIRO, 2000; GEBRAN; GEBERT, 2002; ADDY, 2005).

O uso de antisséptico bucal duas vezes ao dia, em constante motivação, comprovou diminuição significativa nos índices de biofilme e gengivite. Existem dois motivos para justificar o uso de substâncias químicas no controle do biofilme: (1) doenças da boca são de origem bacteriana e, sendo assim, substâncias

antibacterianas poderiam combatê-las; e (2) devido à dificuldade de se obter o bom controle mecânico do biofilme (MONTENEGRO, CRUZ, 2013)

A placa bacteriana, estrutura definida como uma massa não calcificada e densa, que funciona como um depósito de bactérias e fica aderida ao dente, à película adquirida, aos cálculos dentais e às outras estruturas presentes na cavidade oral (MARINHO; ARAÚJO, 2007), vem sendo combatida quimicamente pela comum prescrição de enxaguatórios bucais. Além disso, podem ter indicação de uso para casos específicos entre os quais, os processos inflamatórios e infecciosos instalados na região bucofaríngea (BAUROTH et al., 2003).

A ideia plena dos princípios ativos garante a indicação desses agentes de forma individual ou combinada aos distintos casos clínicos, em que conte o fato da disponibilidade e indiscriminação nas vendas serem fatores predisponentes da automedicação o que pode implicar no surgimento de efeitos colaterais e riscos à saúde como destacam Tavares; Martinez; Gissoni (2008).

Os antissépticos bucais, também conhecidos como enxaguatórios ou colutórios, surgiram no mercado devido a restrição dos métodos mecânicos de higiene, objetivando a prevenção e o tratamento de infecções orais, pois constituem o meio mais simples para veiculação de substâncias antissépticas (ANDRADE et al., 2011). Além de serem coadjuvantes dos procedimentos mecânicos de escovação, estes veículos são usados como facilitadores da distribuição de compostos medicamentosos ativos indicados ao tratamento de afecções específicas, como a cárie e a doença periodontal (BAUROTH et al., 2003; BUGNO et al., 2006; NASCIMENTO et al., 2008).

Os enxaguatórios são constituídos por uma mistura contendo o componente ativo, frequentemente, antimicrobiano, água e/ou álcool, surfactantes, umectantes e flavorizantes (TORRES et al., 2000; RANDOM; FATAHZADEH, 2015). Entre os agentes farmacológicos antimicrobianos mais utilizados, encontram-se: clorexidina, cloreto de cetilpiridínio e triclosan, além dos óleos essenciais (BUGNO et al., 2006; MARINHO; ARAÚJO, 2007; MOREIRA et al., 2007; ARAÚJO et al., 2012). A maioria dos agentes antimicrobianos veiculados no mercado promovem o rompimento da parede celular, vindo a inibir, dessa forma, os complexos enzimáticos, o que culmina no comprometimento das atividades metabólicas bacterianas (SEGURA, 1999; BUGNO et al., 2006). Muito embora tais princípios ativos tenham ação bactericida e bacteriostática, seja de maior ou menor intensidade, levando, habitualmente, a que

segmentos significativos da sociedade creiam que somente sua utilização é suficiente para assegurar uma higiene oral satisfatória, é de extrema relevância que os profissionais de odontologia chamem a atenção dos seus pacientes e informem sobre a realização da higiene bucal adequada, uma vez que os enxaguatórios são coadjuvantes profiláticos (MARINHO; ARAÚJO, 2007).

O interesse profissional pela importância dos enxaguatórios bucais, certamente, poderá influenciar a qualidade desses produtos químicos colocados, frequentemente, à disposição da sociedade pela indústria farmacêutica, transcendendo-se, assim, a visão de que não se trata de simples artigos de perfumaria, conforme registram com propriedade, Tavares, Martinez e Gissoni (2008). Um agente antimicrobiano ideal deve possuir potencial antiplaca, tendo que, obrigatoriamente, causar redução da adesividade bacteriana às superfícies dentais e mucosas orais; inibição do crescimento da proliferação dos microrganismos; inibição da formação da matriz intercelular da placa; modificação do bioquimismo bacteriano a fim de reduzir a formação de produtos citotóxicos e modificação da ecologia do biofilme com vistas ao desenvolvimento de uma microflora oral menos patogênica (MOREIRA et al., 2007).

Várias substâncias antimicrobianas são utilizadas sob a forma de enxaguatórios: fluoreto de sódio, cloreto de cetilpiridínio, triclosan, timol, clorexidina, tirotricina, dentre outras (MONFRIN; RIBEIRO, 2000).

Os benefícios na prevenção à cárie por sais de fluoreto estão bem estabelecidos. Além da atividade durante a mineralização, o íon fluoreto contribui para efeitos cariostáticos, porque influencia na ecologia do biofilme dental. Em odontologia, é empregado sob diversas formas. Nos enxaguatórios, o fluoreto de sódio pode ser utilizado a 0,05% em bochechos diários (TORRES et al., 2000; ADDY, 2005).

O cloreto de cetilpiridínio, presente no Colgate Plax® e Oral B®, é um composto monovalente, catiônico, tensoativo e pertence ao grupo dos compostos quaternários de amônia (MENDES et al., 1995). É mais efetivo contra Gram-positivos, provocando aumento da permeabilidade celular e rompimento da parede celular bacteriana (GEBRAN; GEBERT, 2002). O uso prolongado dessa substância pode causar sensação de queimação, descoloração dos dentes, ulcerações recorrentes e aumento da formação do cálculo (GRANJEIRO et al., 1993).

A clorexidina, encontrada no Colgate Periogard®, é uma bisguanida catiônica, disponível principalmente na forma de sais de digluconato. Apresenta amplo espectro sobre as bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, fungos e leveduras. Diminui significativamente a placa, pois afeta a aderência microbiana, aumenta a permeabilidade celular por meio do rompimento da bactéria ou age através da coagulação e precipitação dos seus constituintes citoplasmáticos. Pode ser utilizada em concentrações de 0,12%, 0,2% e 2%, sendo a clorexidina a 0,12% a mais indicada, devido à associação da eficácia contra os microrganismos e a diminuição dos efeitos adversos, quando comparada com soluções mais concentradas (MENDES et al., 1995; GEBRAN; GEBERT, 2002; SOUZA; ABREU, 2003).

O triclosan, composto ativo do Malvatricim®, é um fenol sintético, não iônico, de baixa toxicidade, e não provoca desequilíbrio na cavidade bucal (SABA-CHUJFI et al., 1998; GEBRAN; GEBERT, 2002). Tem amplo espectro bacteriano, sendo eficaz contra Gram-positivos e Gram-negativos, demonstrando efetividade também contra Mycobacterium e principalmente bactérias anaeróbias, assim como esporos e fungos da espécie Candida. Sua ação ocorre pela lise da membrana citoplasmática do microrganismo (SABA-CHUJFI et al., 1998; MONFRIN; RIBEIRO, 2000). O triclosan pode ser encontrado associado ao copolímero gantrez 0,2% (metoxietileno mais ácido maléico). Essa associação é realizada para aumentar a sua presença na cavidade bucal, devido à baixa substantividade apresentada pelo antisséptico.

O enxaguatório comercialmente denominado Listerine está na categoria dos óleos essenciais, sendo composto por timol, eucaliptol, mentol e salicilato de metila. Age lesando a parede celular bacteriana, inibindo os sistemas enzimáticos e diminuindo os lipopolissacarídeos e o conteúdo protéico da placa bacteriana. Possui baixa substantividade, sensação de queimação, gosto amargo, manchas nos dentes e injúrias ao tecido bucal constituem seus efeitos colaterais (MENDES et al., 1995).

Observando os efeitos adversos dos compostos químicos atualmente utilizados como antissépticos bucais, e a crescente busca por produtos à base de plantas medicinais, ressalta-se a importância dos estudos embasados em produtos naturais e a utilização dos antissépticos bucais sob prescrição do cirurgião dentista, com o objetivo de evitar o uso indiscriminado, e o desenvolvimento de resistência e alterações microbianas (FERES, 2010). Os colutórios destacam-se como alternativa para o controle químico de bactérias da cavidade oral, sendo sugerido o

desenvolvimento de novos produtos capazes de suprir as demandas clínicas e que tenham boa ação antimicrobiana.

3.5 Controle da qualidade de cosméticos

A análise da eficácia antimicrobiana dos colutórios bucais pode ser feita por testes *in vivo* ou *in vitro*. Os últimos comumente são adaptações da determinação da concentração inibitória mínima (CIM), dos procedimentos de difusão em ágar ou de ensaios para a definição do tempo de redução decimal (BOTELHO, 2000), não existindo, no Brasil, um método oficial para a avaliação da atividade antimicrobiana dos enxaguatórios bucais (BUGNO et al., 2006).

Além de serem classificados como produtos de higiene pessoal e cosméticos, no Brasil, os enxaguatórios bucais possuem algumas formulações que tem indicações restritas como antissépticos, uso infantil e antiplaca, que são denominados como produtos de grau 2 e exigem a comprovação da sua eficiência e segurança (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2005).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção do óleo essencial, do material botânico e produção do extrato

Amostras de canela em casca e do óleo essencial da casca foram obtidas no comércio de Lavras – MG, além disso, foi feita a extração do óleo das amostras adquiridas pelo método de hidrodestilação com o aparelho de Clevenger modificado. Para a extração do óleo, 50g de caules secos e triturados de canela foram colocados em um balão volumétrico com 500 ml de água. Após o tempo de destilação, o óleo, junto com a água, foi recolhido em um Becker e separado da água. O tempo de extração foi de 2 horas. Após este período, os óleos essenciais foram armazenados, em frascos âmbar, até o momento de sua utilização.

Foram preparados extratos alcoólicos (p/v) e hidro alcoólicos (4:6) a 30% (p/v), ambos pelo método de maceração (24h e 15 dias) e aquoso, na mesma concentração (30%), pelo método de decocção.

4.2 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A atividade antibacteriana, determinada pela Concentração Inibitória Mínima, foi avaliada por meio da técnica de difusão em ágar, realizada conforme recomendações do CLSI (2009), com adaptações. Foram realizados repiques de *Streptococcus mutans* (ATCC25175), em caldo BHI e incubado a 35°C, em jarra anaeróbica, durante 18 horas. O inóculo foi preparado utilizando-se 100 µL de suspensão bacteriana na concentração de 10^8 células.mL⁻¹, padronizado de acordo com a turbidez 0,5 da escala de McFarland . A seguir, o inóculo foi disperso, com um swab, por toda a dimensão da placa de Petri (15 x 90 mm), contendo 20 mL de meio ágar BHI.

Os óleos (extraído e comprado) foram testados in natura (100%) e em diluições de 10%, 1%, 0,1%, 0,01% e 0,001% para determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Os extratos brutos e suas diluições (1/2; ¼; 1/8; 1/16; 1/32; 1/64; 1/128) também foram testados frente a *Streptococcus mutans* (ATCC25175)

A atividade antibacteriana foi avaliada pelo método de difusão em meio sólido, utilizando-se cavidades em placa. Foram confeccionadas cavidades no meio de cultura previamente semeado com suspensão de *Streptococcus mutans*, com auxílio

de cânulas de vidro estéreis (6 mm de diâmetro), onde foram inoculados 25 µl de cada diluição dos óleos e extratos testados. O sistema foi incubado a 36 °C, em jarra anaeróbica, por 48 horas, em estufa bacteriológica. Foram realizadas leituras do halo de inibição após 24 horas de incubação. Todo o experimento foi realizado em triplicata. Posteriormente, foi estabelecido como CIM a concentração do óleo capaz de desenvolver um halo de inibição do crescimento bacteriano maior ou igual a 8 mm de diâmetro, medido por uma régua milimetrada (PACKER, LUZ, 2007). Como controle negativo foram usados os solventes utilizados na preparação dos extratos e diluições (álcool e óleo de rícino etoxilado) e, como controle positivo, foi utilizada solução de clorexidina 0,12%, um antibacteriano convencional.

4.3 Preparo dos enxaguantes bucais

As formulações desenvolvidas no presente trabalho encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1 – Formulações dos enxaguatórios bucais

COMPONENTES (em %)	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12
Óleo extraído	1	0,1	0,01	0,001		-	-	-	0,5	0,5	-	-
Óleo comprado	-	-	-	-	0,01	0,001	-	-	-	-	0,5	0,5
Clorexidina	-	-	-	-	-	-	-	0,12	-	-	-	-
Óleo de rícino hidrogenado	5	5	5	5	5	5	5	-	2,5	2,5	2,5	2,5
Glicerina	5	5	5	5	5	5	5	5	2,5	2,5	2,5	2,5
Metil parabeno	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,075	0,075	0,075	0,075
Sacarina	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,02	0,02	0,02	0,02
Água qsp (mL)	100	100	100	100	100	100	100	100	50	50	50	50
Extrato hidroalcolólico (mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	5

F1 = formulação 1; F2 = formulação 2; F3 = formulação 3; F4 = formulação 4; F5 = formulação 5; F6 = formulação 6; F7 = formulação 7; F8 = formulação 8; F9 = formulação 9; F10 = formulação 10; F11 = formulação 11; F12 = formulação 12. Fonte: elaborado pela autora (2019).

Conforme demonstrado acima, formulações foram preparadas com o óleo extraído de canela, nas concentrações de 1%, 0,1%, 0,01% e 0,001% respectivamente e com óleo comprado, nas diluições 0,01% e 0,001%. Após a obtenção dos resultados, foram preparadas formulações com óleo extraído e comprado a 1%, nas quais foram acrescidas 5 ml de extrato hidroalcolico para avaliar um possível efeito sinérgico e tentar potencializar a ação do óleo em menores concentrações. Uma formulação sem o extrato e óleo, para verificar uma possível atividade dos demais componentes da formulação (controle negativo) e outra com clorexidina, uma substância química comumente encontrada em alguns antissépticos comerciais, com o objetivo de compará-la às formulações contendo o fitoterápico.

A técnica empregada no preparo das formulações foi: aquecer parte da água destilada e o metilparabeno à 65 °C (para solubilização); solubilizar a sacarina em água destilada e adicionar glicerina. Na formulação 8 (controle positivo) adicionou-se a clorexidina. Nas formulações contendo extrato de canela, este foi adicionado aos poucos sob agitação vigorosa. O óleo de canela foi previamente dispersado com o óleo de rícino hidrogenado e polioxilado 40 e em seguida adicionado à formulação sob agitação vigorosa.

4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

Os testes biológicos foram realizados sobre cepa padrão de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

4.4.1 Preparo das suspensões bacterianas

Os inóculos bacterianos foram adaptados e padronizados segundo o documento do National Committee For Clinical Laboratory Standard – NCCLS M2-A8 (NCCLS, 2003).

As colônias obtidas foram aliqüotadas e refrigeradas em eppendorfs. Para o seu uso, foi diluído 25µL da bactéria em cada tubo de caldo BHI e incubada em jarra anaeróbica e estufa a 35°por 24 horas.

4.4.2 Padrão de sensibilidade frente a *Streptococcus mutans*

Os ensaios para verificação da sensibilidade da cepa de *Streptococcus mutans* foram realizados pelo método de difusão em placas de petri, contendo 20mL de Ágar *Brain Heart Infusion* (BHI).

Os inóculos, anteriormente padronizados, foram semeados sobre toda a superfície do ágar, de modo a se obter um crescimento uniforme e semiconfluente. As placas foram colocadas para secar, durante 3 a 5 minutos, e realizadas em seguida as perfurações das cavidades. Nas cavidades foram adicionados 25µL das formulações, do extrato, dos óleos, do líquido extrator (álcool etílico/água 6:4) e da clorexidina 0,12%.

As placas foram incubadas em jarra anaeróbica e estufa a 35°C por 24 horas. Após este período de incubação, a leitura foi realizada pela medida do halo de inibição com auxílio de régua milimetrada.

Os ensaios foram realizados em triplicata e o resultado final foi determinado pela média aritmética dos halos de inibição.

4.5 Testes Físico-químicos

4.5.1 Análise macroscópica

A análise macroscópica foi realizada observando-se as características organolépticas (cor, odor) e a homogeneidade, a fim de avaliar as condições físicas das amostras. Para estas análises foram utilizados os órgãos sensitivos.

Para a análise da homogeneidade, foi observada a presença de grumos, partículas estranhas ou precipitação.

4.5.2 Análise do pH

As análises de pH foram realizadas pelo método potenciométrico, de acordo com a metodologia descrita por Volochchuk et. al. (2000).

Inicialmente o pHmetro foi calibrado com soluções de pH padrão de 4 e 7. O pH das soluções obtidas foi aferido no pHmetro, inserindo-se o eletrodo diretamente na solução preparada, e anotados os valores. O pH final foi obtido pelo cálculo da média dos valores obtidos após 3 medições.

Os enxaguatórios foram classificados de acordo com o pH em potencialmente erosivos quando apresentaram pH inferior a 5,50 e potencialmente não-erosivos quando com pH igual ou superior a 5,51.

4.5.3 Análise da densidade

A densidade baseia-se na razão entre a massa e o volume de uma dada amostra. Análise da densidade das formulações foi realizada utilizando-se o picnômetro de vidro.

Pesou-se o picnômetro vazio e anotou-se o seu peso (M0). A seguir, foi completado com água purificada, evitando-se a introdução de bolhas. Após secá-lo cuidadosamente, foi necessário pesá-lo novamente e anotar seu peso (M1). Em seguida a amostra foi colocada até encher completamente o picnômetro (limpo e seco), evitando a formação de bolhas. Depois de secá-lo cuidadosamente, ele foi pesado mais uma vez e seu peso foi anotado (M2). O cálculo da densidade foi feito utilizando a fórmula:

$$d = \frac{M2-M0}{M1-M0}$$

Onde: d = densidade

M0 = massa do picnômetro vazio, em gramas

M1 = massa do picnômetro com água purificada, em gramas

M2 = massa do picnômetro com a amostra, em gramas

A densidade das formulações deveria estar em valor aproximadamente 1,000 g/ml.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

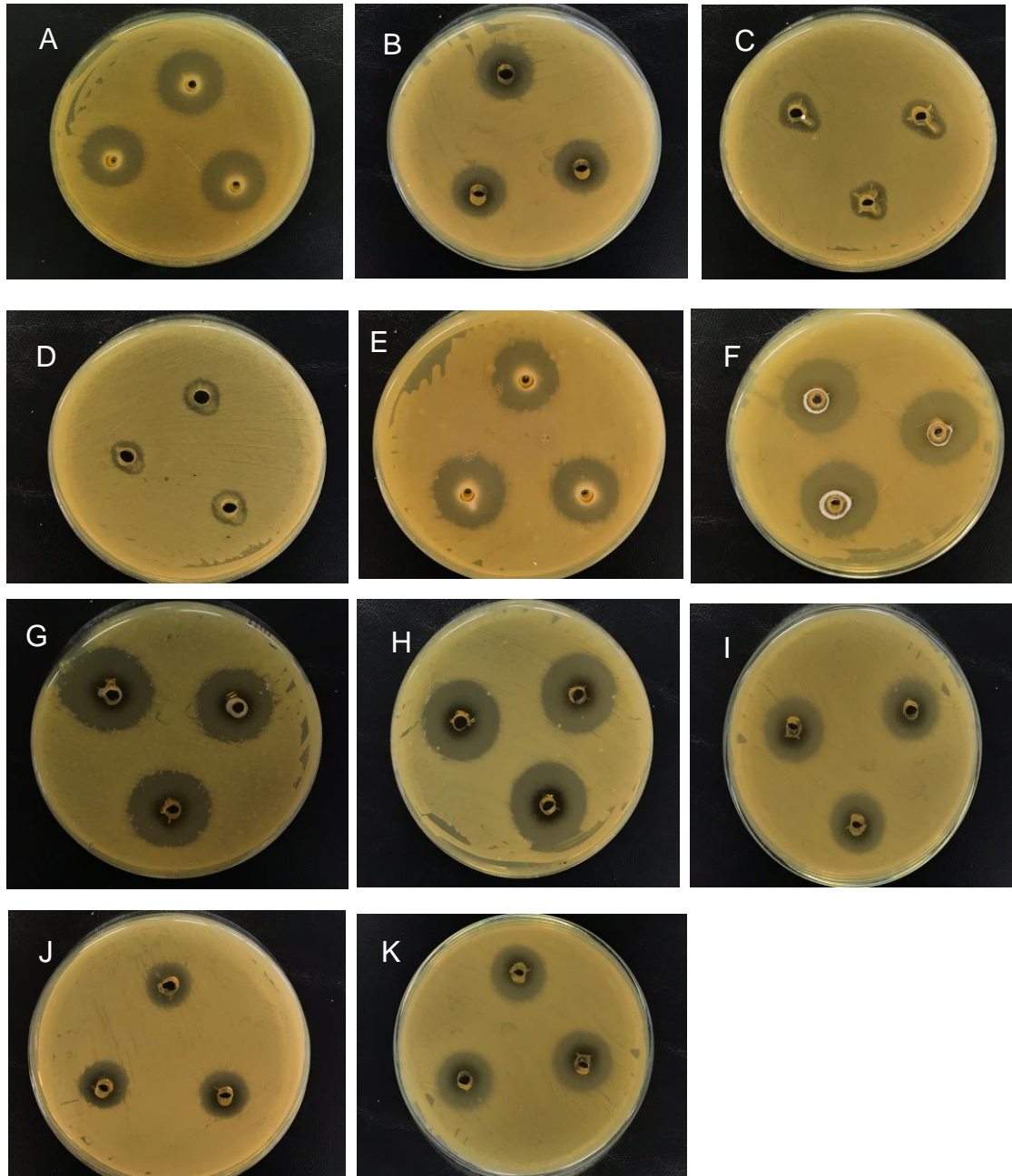
5.1 Resultados

Os extratos alcoólico e hidroalcoólico 30% (24 horas e 15 dias) e aquoso a 30%, e suas respectivas diluições, não apresentaram atividade sobre *Streptococcus mutans*. O óleo extraído apresentou atividade até a diluição 1/1000 e o óleo comprado até a diluição 1/100000, conforme Tabela 2 e Figura 1.

TABELA 2 - Média dos halos de inibição óleo essencial de canela e suas diluições, sobre *Streptococcus mutans*.

Testes	Halo (mm)	Testes	Halo (mm)
Óleo extraído puro	22	Óleo puro comprado	26
Óleo extraído 1/10 (10%)	17	Óleo comprado 1/10	25
Óleo extraído 1/100 (1%)	13	Óleo comprado 1/100	24
Óleo extraído 1/1000 (0,1%)	10	Óleo comprado 1/1000	24
Óleo extraído 1/10000 (0,01%)	0	Óleo comprado 1/10000	19
Óleo extraído 1/100000 (0,001%)	0	Óleo comprado 1/100000	15
Clorexidina 0,12% (Controle positivo)	19		
Álcool (Controle negativo)	0		
Óleo de rícino hidrogenado (Controle positivo)	0		

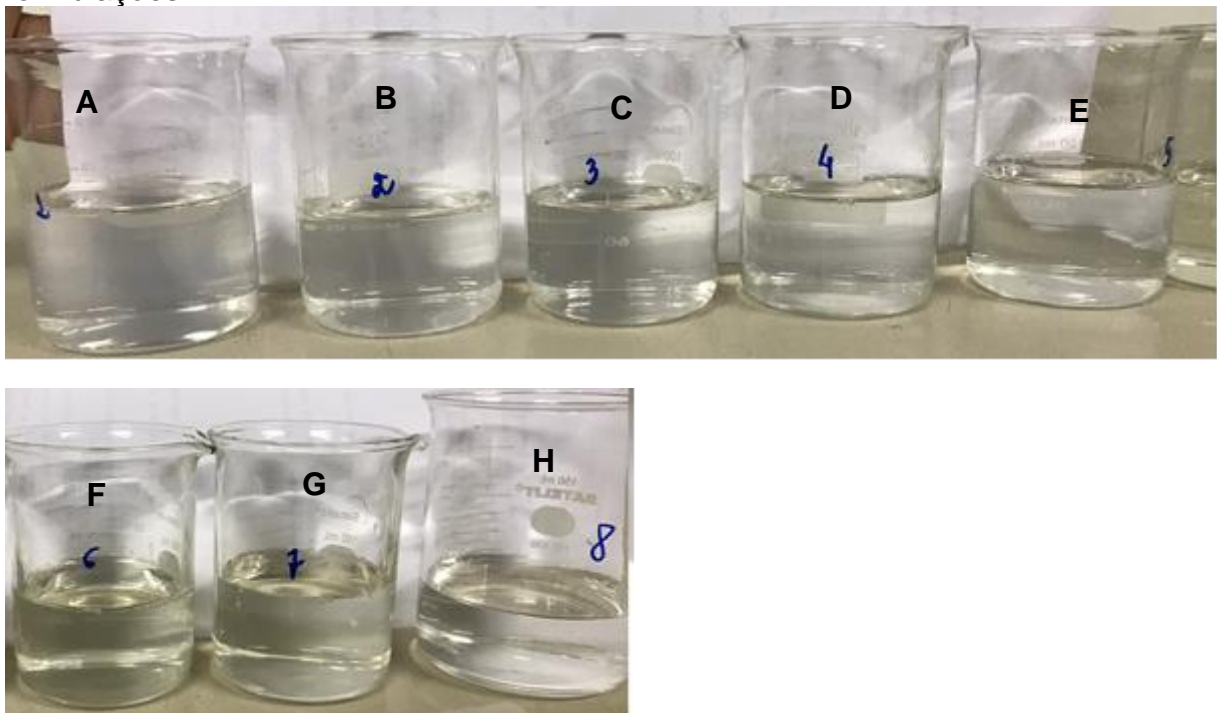
Fonte: elaborado pela autora (2019).

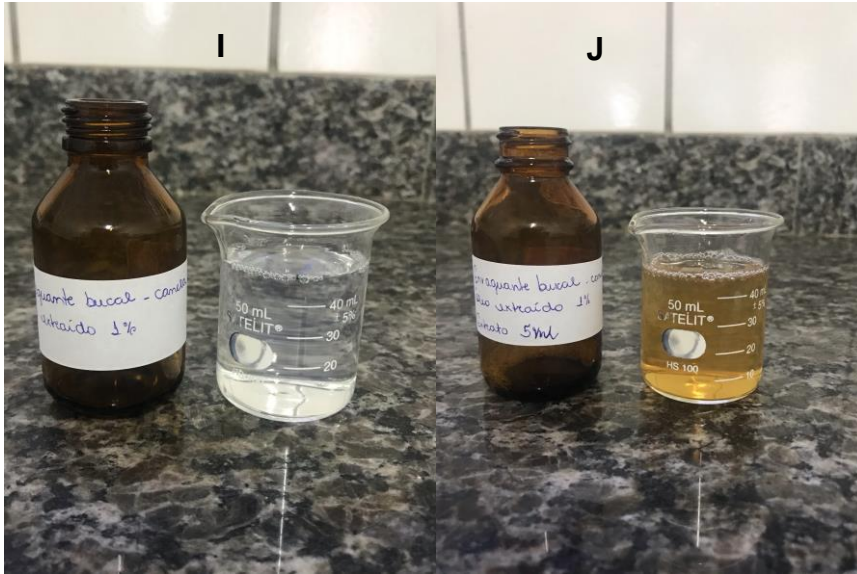
FIGURA 1 – Teste de Susceptibilidade frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

(A) óleo extraído puro, (B) óleo extraído 10%, (C) óleo extraído 1%, (D) óleo extraído 0,1%, (E) óleo comprado puro, (F) óleo comprado 10%, (G) óleo comprado 1%, (H) óleo comprado 0,1%, (I) óleo comprado 0,01%, (J) óleo comprado 0,001% e (K) clorexidina 0,12%. **Fonte:** arquivo pessoal da autora (2019).

A partir dos resultados da CIM, foram preparados enxaguantes utilizando o óleo extraído a 1% (Formulação 1), 0,1% (Formulação 2) e 0,01% (Formulação 3) e óleo comprado 0,01% (Formulação 4) e 0,01% (Formulação 5). As formulações 7 (isenta de óleo e extrato) e 8 (contendo clorexidina a 0,12%) foram usadas como controle negativo e positivo, respectivamente; também, enxaguantes com óleo extraído a 1% (Formulação 9), óleo extraído a 1% + 5ml de extrato hidroalcoólico (Formulação 10), com óleo comprado a 1% (Formulação 11) e óleo comprado 1% + 5 ml de extrato (Formulação 12). Todas apresentaram características macroscópicas e físico-químicas adequadas, ou seja, apresentaram-se transparente, exceto as formulações 10 e 12, que por possuírem extrato em sua composição se apresentaram com cor e odor característico, pH entre 4 e 5 e densidade em torno de 1,000g/ml (Figura 2 e Tabela 3).

FIGURA 2 – Aspecto transparente verificado na análise macroscópica das formulações.





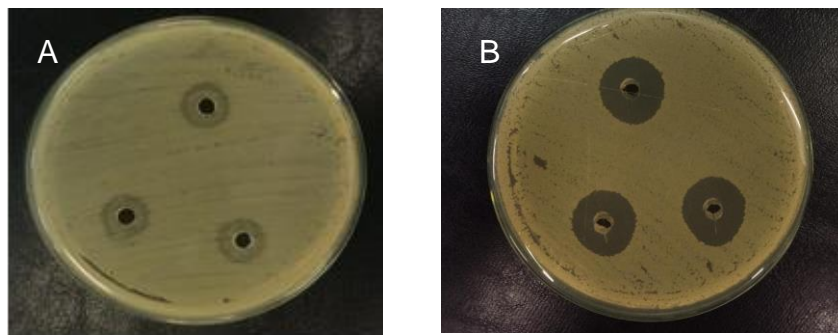
(A) formulação 1, (B) formulação 2, (C) formulação 3, (D) formulação 4, (E) formulação 5, (F) formulação 6, (G) formulação 7, (H) formulação 8, (I) formulação 9, (J) formulação 10, (K) formulação 11 e (L) formulação 12. **Fonte:** arquivo pessoal da autora (2019).

TABELA 3 - Densidade e pH das formulações:

	pH 3dias	Densidade
Formulação 1	4,8	1,018
Formulação 2	4,9	1,012
Formulação 3	4,7	1,015
Formulação 4	4,5	1,018
Formulação 5	4,7	1,015
Formulação 6	4,2	1,020
Formulação 7	4,1	1,005
Formulação 8	4,9	1,014
Formulação 9	-	1,008
Formulação 10	-	1,008
Formulação 11	-	1,013
Formulação 12	-	1,017

Fonte: elaborado pela autora (2019).

Dos 12 enxaguatórios preparados, apenas as formulações 1 e 8 apresentaram atividade sobre a cepa testada, com halos de 12mm e 19mm, respectivamente (Figura 3). A Formulação 7 (controle negativo) não inibiu o crescimento da bactéria, desta forma, sugere-se que os componentes da formulação não apresentam atividade sobre a cepa testada.

FIGURA 3 – Teste de Susceptibilidade frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175

(A) Formulação 1 e (B) Formulação 8. Fonte: arquivo pessoal da autora (2019).

5.2 Discussão

A clorexidina é o principal agente químico empregado nos enxaguantes bucais industrializados. Uma das principais vantagens do uso desse fármaco, habitualmente na concentração de 0,12%, é o amplo espectro antimicrobiano que alcança, uma vez que age sobre os microrganismos gram-positivos e gram-negativos, além da substantividade prolongada e contínua, apesar da presença de sangue e dos demais fluidos corporais (SEMENOFF SEGUNDO et al., 2007). Vários estudos demonstraram o seu potencial antimicrobiano, especialmente sobre *S. mutans*, porém seus efeitos colaterais não são poucos, podendo causar pigmentação dos dentes, interferência gustativa, descamação da mucosa e resistência de germes quando do uso diário prolongado, além de possuir sabor amargo, fazendo assim com que seu uso deve acontecer de maneira esporádica.

No presente estudo, o enxaguante contendo clorexidina na concentração de 0,12% (Formulação 8) apresentou halo de inibição de 19 mm, sendo compatível com as pesquisas de Soares et al. (2006) e Moreira et al. (2009) em que a substância em questão teve halo de inibição de 16,2mm e 20mm respectivamente, comprovando seu potencial de ação.

Muitos óleos essenciais têm sido recomendados para uso nas ciências da saúde para vários tipos de infecções orais. No entanto, poucas evidências terapêuticas foram validadas adequadamente por testes laboratoriais para serem comprovadas cientificamente (CHAUDHARI et al., 2012).

A canela é um produto natural, fonte de inúmeras substâncias (flavonóis e fenóis), as quais são responsáveis por suas propriedades terapêuticas, podendo, assim, ser utilizado em diversas áreas melhorando a qualidade de vida das pessoas. Sabe-se que o desenvolvimento do enxaguante bucal a base de canela é uma estratégia interessante que permite a utilização contínua do produto sem efeito colateral e que possa ajudar no combate da cárie, que é um problema de saúde pública.

O óleo de canela comprado e extraído apresentou atividade sobre a cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC25175) em diversas concentrações com halos médios de até 26mm. Resultados semelhantes foram encontrados nos trabalhos de Barrientos e Jorge (2017) corroborando a importância dos testes de produtos naturais facilmente encontrados no comércio que, quando bem recomendados,

podem aumentar a acessibilidade da população quanto ao tratamento de patologias orais.

De acordo com a pesquisa de Andrade et al. (2012), ao testar a composição dos óleos de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale* o de canela foi o mais efetivo na inibição do crescimento bacteriano, resultado que pode estar relacionado com a presença do aldeído cinâmico como componente majoritário na estrutura da casca da planta, justificando os dados encontrados neste trabalho. De acordo com Burt (2004), o mecanismo de ação seria, portanto, semelhante a outros aldeídos, que é normalmente considerado como aquele que provoca danos a lipídios e proteínas.

No entanto, apesar de os óleos comprado e extraído e suas respectivas diluições apresentarem bom potencial de ação frente a cepa da bactéria, as formulações contendo óleo na concentração abaixo de 1% não apresentaram atividade inibitória, algo que pode ser explicado por algum outro componente interferir na biodisponibilidade do princípio ativo ou devido ao pH erosivo.

Com relação às propriedades físico-químicas, o pH deveria se encontrar acima do início de desmineralização do esmalte, que é a 5,5. Com isso, são necessários pequenos ajustes nas formulações, já que nas pesquisas de Cardoso (2020) o PerioGard®, uma das substâncias mais recomendadas pelos cirurgiões dentistas, mostrou o pH em 5,72, não muito distante dos encontrados nos enxaguantes do presente estudo.

6 CONCLUSÕES

O óleo essencial de canela apresentou atividade antibacteriana sobre *Streptococcus mutans*, sendo potencial candidato para prevenção de cárie. Espera-se que o óleo, quando usado em soluções, substituam produtos comercializados que muitas vezes são tóxicos para o organismo.

A formulação contendo clorexidina 0,12% apresentou maior potencial de ação comparado a formulação contendo 1% de óleo extraído. Entretanto, para fins terapêuticos, são necessários ajustes visando alcançar um pH mais alcalino e a busca de novos métodos que visem potencializar a ação do óleo em menores concentrações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDY, M. **O uso de anti-sépticos na terapia periodontal**. In: LINDHE, J. Tratado de periodontia. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.450-477.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Resolução RDC no. 211, de 14 de julho de 2005**. Ficam estabelecidas a Definição e a Classificação de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, conforme Anexos I e II desta Resolução.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. 2007.

ALELUIA, C. et al. Fitoterápicos na Odontologia. **Rev. Odontol. Univ. Cid. São Paulo**. v 27, n2, p126-34, 2015.

ANDRADE, I. P. et al. Concentração inibitória mínima de antissépticos bucais em microrganismos da cavidade oral. **Rev. Bras. Pesq. Saúde, Vitória**, v. 13, n. 3, p. 10-16, 2011.

ANDRADE, M. A. et al. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012.

ARAÚJO, D. B. et al. **Mouthrinses: active ingredients, pharmacological properties and indications**. RGO, Porto Alegre, v.60, n.3, p. 349-357, 2012.

ARAÚJO, D. B. et al. Saúde bucal: a importância dos enxaguatórios com antissépticos. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, Salvador, v. 14, n. 1, p. 88-93, 2015.

ARAÚJO, M. V. de A. et al. Prevalência de cárie dentária, autopercepção e impactos em saúde bucal em adolescentes na ilha do Marajó Pará. RDAPO: **Revista Digital da Academia Paraense de Odontologia**. Belém PA, v.1, n.1, 2017.

BARATIERI L. N. et al. **Odontologia Restauradora - Fundamentos e Possibilidades**. 1. ed. São Paulo: Santos, 2002, 739p.

BARBOSA, F. T. de S. et al. Princípios ativos de enxaguatórios bucais comercializados em Fortaleza, seus tipos e suas informações. **Braz J Periodontol**. v 27, 2017

BAUROTH, K. et al. The efficacy of an essential oil antiseptic mouthrinse vs. dental floss in controlling interproximal gingivitis: a comparative study. **J. am. dent. assoc., Chicago**, v. 134, n. 3, p. 359-365, 2003.

BARRIENTOS, L.; JORGE, A. **Actividad antibacteriana del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) em comparación a la clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estudio *in vitro***. Tesis para optar el título de cirujano dentista. Lima, Peru, 2017.

BOTELHO, M.G. Fractional inhibitory concentration index of combinations of antibacterial agents against cariogenic organisms. **J. Dent., Kidlington**, v.28, p.565-570, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia brasileira.5.ed. Brasília: Anvisa**, 2v/il. 5 ed. 718-723, 852p 2010

Brasil. Decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006. **Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília-DF, jun, 2006.

BUGNO, A.N. et al. **Enxaguatórios bucais: avaliação da eficácia antimicrobiana de produtos comercialmente disponíveis**. R. Inst. Adolfo Lutz, São Paulo, v.65, n.1, p.40-45, 2006.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 03, p. 223-253, 2004.

CARDOSO, A. P. **Análise do PH e da efetividade antimicrobiana de antissépticos bucais a base de produtos naturais e clorexidina**. Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao curso de graduação de Odontologia da Universidade de Uberaba, 2020.

CATÃO, M. H. C. de V. et al. Estudos Clínicos com Plantas Medicinais no Tratamento de Afecções Bucais: Uma Revisão de Literatura. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**. n 14, n 4, p 279-85, 2012.

CECHINEL FILHO, V. Principais avanços e perspectivas na área de produtos naturais ativos: estudos desenvolvidos no NIQFAR/UNIVALI. **Quím Nova** v 23, n5, p 680-5, 2000.

CHAUDHARI, L. K. D. et al. Antimicrobial Activity of Commercially Available Essential Oils Against Streptococcus mutans. **J Contemp Dent Pract** 2012;13(1):71-74.

CHENG, M. D. et al. In vivo and in vitro antidiabetic effects of aqueous cinnamon extract and cinnamon polyphenol-enhanced food matrix. **Food Chemistry**, v.135, p. 2994–3002, 2012.

ELDIN S.; DUNFORD A. **Fitoterapia na atenção primária a saúde**. São Paulo: Manole; 2001.

CORDEIRO, C.H.G. et al. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. **Rev. Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n.3. Jul/Set, 2006.

COSTA, C. E. S. **Atividade antimicrobiana do stryphnodendron adstringens sobre streptococcus mutans**. Londrina: [s.n], 2017. 44 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Universidade Pitágoras, Unopar.

CRUZ, M. C. C. et al. Práticas de higiene oral de graduandos de odontologia **Arch Health Invest** . v 4, n 3, p 52-56, 2015.

FEJERSKOV, O.; KIDD, E. **Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico**. 1. ed. São Paulo: Santos, 2005.

FERES, M. Controle diário do Biofilme com antissépticos – Uma visão atual para a prática clínica. Enxaguatórios o dia a dia do dentista. **Rev ABO Nac**. 18: 3-8, 2010.

FRANCISCO, K. M. S. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. **Rev saúde**. v 4, n 1, p 18-24, 2010.

GEBRAN, M.P; GEBERT, A.P.O. Controle químico e mecânico de placa bacteriana. **Tuiuti: Ciência e Cultura**, Curitiba, n.26, v.3, p.45- 58, 2002.

GRANJEIRO, J.M. et al. O cloreto de cetilpiridínio e a placa bacteriana: uma revisão. **R. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v.46, n.5, p857-860, 1993.

JHAM, G.N. et al. Identification of the major fungitoxic component of cinnamon bark oil. **Fitopatologia Brasileira** 30:404-408. 2005.

GOMES, M. S. et al. Uso de plantas medicinais na Odontologia: uma revisão integrativa. **Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança**. João Pessoa-PB. 2020; 18(2): 118-126.

GUYOT, M. M. **Perspectivas de la fitoterapia**. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 9, n.º 2, p. 131 –138, 1990.

HAMADA, S; KOGA, T.; OOSHIMA, T. Virulence factors of Streptococcus mutans and dental caries prevention. **J. Dent. Res.** 63: 407-411, 1984.

JAYAPRAKASHA, G. K.; RAO, L. J. M.; SAKARIAH, K. K. Volatile constituents from Cinnamomum zeylanicum fruit stalks and their antioxidant activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 51, p. 4344–4348, 2003.

KHAN, A et al. Cinnamon improves glucose and lipids of people with type 2 diabetes. **Diab Care**, v. 26, n. 12 , p. 3215-3218, 2003.

LEITE SN. **Além da medicação: a contribuição da fitoterapia para a saúde pública [dissertação]**. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2000.

LEITES, A. C. B. R.; PINTO, M. B.; SOUSA, E. R. de S. Aspectos microbiológicos da cárie dental. **Salusvita**, Bauru, v. 25, n. 2, p. 239- 252, 2006.

LIMA JÚNIOR. J. F. et al. O uso de fitoterápicos e a saúde bucal. **Saúde em Revista**. Piracicaba, V. 7 n.16, p. 11-17, 2005.

LIMA A. **Plantas medicinais no tratamento de feridas**. Petrópolis, RJ: EPUB; 2009.

LLENA-PUY, C. The rôle of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal**, v.11, n.5, p.449-55, 2006.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Nova Odessa; 2002.

MAGALHÃES, A. C. et al. **Cariologia**: da base à clínica. 1. ed. São Paulo: Editora Manole, 2020.

MARINHO B. V. S.; ARAÚJO A. C. S. **O uso dos enxaguatórios bucais sobre a gengivite e o biofilme dental**. Int. j. dent., Recife, v. 6, n. 4, p. 124-131, 2007.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C. **Dias JE.Plantas medicinais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000.

MARTINS, S.; SILVA FILHO, C. E.; NEPOMUCENO, V. C. Uma grande descoberta: o prazer que a higienização bucal correta e bem orientada pode proporcionar. **Rev Odontol** Araçatuba, v 24, n 2, p 39-42, 2003.

MATSUDA, A. H.; NEGRAES, P. F. Fitoterápicos: complementos nutricionais ou medicamentos? In. TORRES, E. A. F. da S. **Alimentos do milênio: a importância dos transgênicos, funcionais e fitoterápicos para a saúde**. São Paulo: Signus, 2002. p. 31-42.

MENDES, M.M.S.G. et. al. **Agentes químicos para o controle da placa bacteriana**. Periodontia, Fortaleza, v.5, n.2, p.253-256, 1995.

MOLINA F. P. et al. Própolis, sálvia, calêndula e mamona: atividade antifúngica de extratos naturais sobre cepas de Candida albicans. **Ciênc. Odontol. Bras.** 2008 abr-jun;11(2):86-93.

MONFRIN, R.C.P.; RIBEIRO, M.C. **Avaliação in vitro de anti-sépticos bucais sobre a microbiota da saliva**. R. Assoc. Paul. Cir. Dent., São Paulo, v.54, n.1, p.401-407, 2000.

MONTE, D. O. et al. Conscientização da Higienização bucal na população brasileira **Ciências biológicas e da saúde**. v. 2 , n. 2 , p. 53-60, 2015.

MONTEIRO, M. H. D. A.; FRAGA, S. A. P. M. Fitoterapia na odontologia: levantamento dos principais produtos de origem vegetal para saúde bucal. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v 9, n 4, p 253-303, 2015.

MONTENEGRO, M. F.; CRUZ, R. de A. **Promoção de saúde bucal em pacientes ortodônticos**. São Paulo: Editora GEN, 2013.

MOREIRA, A. C. A. et al. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. **Rev. Cien. méd. biol.**, Salvador, v.8, n.2, p.153-161, mai./ago, 2009.

MOREIRA C. H. C. et al. Análise do perfil de consumo de dentifrícios pelos pacientes das clínicas da Universidade Luterana do Brasil. **Revista Odonto**. v15, n 30, p 83-8, 2007.

NASCIMENTO A. P. et al. Efficacy of mouthrinse spray in inhibiting cariogenic biofilm formation on toothbrush bristles. **Braz. j. oral sci.**, Piracicaba, v. 7, n. 24, p. 1989-1992, 2008.

NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Rev Bras Cienc Farm.**, v. 41, n. 2, p.121-142, 2005.

OLIVEIRA F. Q. et al. Espécies vegetais indicadas na odontologia. **Revista brasileira de farmacognosia**. n 3, p 466-76, 2007.

OSAWA, K. Studies of antibacterial activity of plant extracts and their constituents against periodontopathic bacteria. **Bull Tokyo Dent Coll**, v. 31, n. 1, p. 17 –21, 1990.

PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 102–107, 2007.

PITTS, N. B. et al. Dental caries. **Nat Rev Dis Primers**. 2017;3:17030.

RANDON, N.; FATAHZADEH, M. Oral Rinses: Mouth Rinses and Mouthwashes- **Consumer Guide to Dentistry**. 2006-2015. Disponível em:< <http://www.yourdentistryguide.com/oral-rinse/>>. Acesso: 8 de maio de 2015

REIS, F. O. V.; TOURINO, J. G.; FERREIRA, G. Efeito do Tratamento Crônico com Extrato Aquoso de *Cinnamomum zeylanicum* em Ratos Induzidos à Obesidade e Hiperglicemia. **Revista Ciências em Saúde** v5, n 2, 2015.

REN, Z. et al. Inibição da síntese de polissacarídeos de *Streptococcus mutans* por moléculas que visam a atividade da glicosiltransferase. **J. Oral. Microbiol.** 8: 31095. doi: 10.3402, 2016.

RIBEIRO, A. S. C. et al. Atividade Antimicrobiana de Diferentes Colutórios Fitoterápicos. **Cienc. Biol. Agrar. Saúde**, v. 19, n. 4, p. 178-183, 2015.

SABA-CHUJFI, E. et al. A eficácia da formulação contendo o anti-séptico triclosan associado ao copolímero gantrez e ao flúor, utilizada através de bochecho para controle químico da placa bacteriana. **R. Assoc. Bras. Odontol.**, São Paulo, v.6, n.3, p.164-170, 1998.

SALAMANCA, E. J. F. **Influência da matriz extracelular na expressão gênica de Streptococcus mutans em biofilme cariogênico**. Dissertação de mestrado. Dissertação (Mestrado em Prótese) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, 2017.

SEGURA, M. E. **Estudos dos compostos de inclusão tipo hospedeiro- - convidado entre a beta-ciclodextrina e a clorexidina: avaliação in vitro**. 1999, 101f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

SEMENOFF SEGUNDO, A. et al. Efetividade do gluconato de clorexidina a 0,12% e do digluconato de clorexidina a 2% adquiridos em diferentes dentais e farmácias, na cidade de Cuiabá, sobre *Candida albicans*. **Instituto de Ciência e Tecnologia - Universidade Estadual Paulista – UNESP**. 17(1): 18-22, 2007.

SILVA, M. das G. B. et al. Cárie precoce da infância: fatores de risco associados. **Arch Health Invest** v 6, n 12, p 574-579, 2017.

SILVEIRA, P. F.; BANDEIRA, M. A. M.; ARRAIS P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Rev brasileira de Farmacognosia**, 18(4):618-26, 2008.

SOARES, D. G. de S. et al. Susceptibilidade *in vitro* de bactérias bucais a tinturas fitoterápicas. **Revista Odonto Ciência** – Fac. Odonto/PUCRS, v. 21, n. 53, jul./set. 2006.

SOUZA, R.R.; ABREU, M.H.N.G. **Análise crítica da indicação da clorexidina no controle da placa bacteriana e doença periodontal**. Arq. Odontol., Belo Horizonte, v.39, n.3, p.163- 254, 2003.

SOUSA, P. R. S. **Avaliação antifúngica do óleo essencial de Cinnamomum zeylanicum Blume como promotor do controle do gênero Penicillium do ar ambiental em sistema industrial alimentar**. 110 f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) Universidade Federal da Paraíba - UFP, João Pessoa, 2011.

SPOLIDORIO, D.; DUQUE, C. **Microbiologia e Imunologia Geral e Odontológica**. 2.ed. São Paulo: Artes Medicas Ltda., 2013. 143pg.

STAINESS, S. S. Herbal medicines: adverse effects and drug-herbinteractions **.J.MaltaColl.Pharm.Pract**, 2011;17:38-42.

TABAK, M.; ARMON, R.; NEEMAN, I. Cinnamon extracts' inhibitory effect on Helicobacter pylori. **Journal Ethnopharmacology**. v. 67, p. 269–277, 1999.

TAVARES, E.; MARTINEZ, H.; GISSONI, M. Soluções químicas para uso tópico bucal – classificação e advertências. **Rev. bras. odontol.**, Rio de Janeiro, v. 65, n. 1, p. 36-41, 2008.

THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**. 2 ed, São Paulo: Santos, 1994.

TRAJANO, V. N. et al. Inhibitory effect of the essential oil from Cinnamomum zeylanicum Blume leaves on some food-related bacteria. **Cienc Tecnol Aliment** 2010; 30(3):771-5, 2010.

TORRES, C. R. G. et al. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na Odontologia. **PGR: Pós-Grad. R. Odontol.**, São José dos Campos, v.2, n.2, p.43-52, 2000.

VEIGA JÚNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Rev. brasileira de farmacognosia**, 2008;18(2):308-13.

VOLOCHTCHUK, O. M et al. Variações do pH dos sabonetes e indicações para sua utilização na pele normal e na pele doente. **An bras Dermatol**, Rio de Janeiro, 75(6):697-703, nov./dez. 2000. Disponível em: <
<http://20.demo.leya.com/agcmv2/resources/8376c0638840f17b6f6a6f23052f6aefae596e2.pdf>>. Acesso em 25 fev. 2013.

ZAMBON, J. J.; KASPRZAK, S. A. The microbiology and histopathology of human root caries. **Am. J. Dent.** 8(6): 323-8, 1995.