



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LAVRAS

**DESENVOLVIMENTO, ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ENXAGUANES BUCAIS CONTENDO ÓLEO E
EXTRATO DE *Syzygium aromaticum* (CRAVO DA ÍNDIA)**

ELISA DE OLIVEIRA SEVERO

**LAVRAS – MG
2021**

ELISA DE OLIVEIRA SEVERO

**DESENVOLVIMENTO, ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ENXAGUANTES BUCAIS CONTENDO ÓLEO E
EXTRATO DE *Syzygium aromaticum* (CRAVO DA ÍNDIA)**

Monografia apresentada 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**

FICHA CATALOGRÁFICA

ELISA DE OLIVEIRA SEVERO

**DESENVOLVIMENTO, ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ENXAGUANTES BUCAIS CONTENDO ÓLEO E
EXTRATO DE *Syzygium aromaticum* (CRAVO DA ÍNDIA)**

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

APROVADA EM 28/10/2021

ORIENTADORA

Profa. Dra. Mirelle Oliveira Sóter França - Unilavras

MEMBRO DA BANCA

Profa. Dra. Renata de Carvalho Foureaux - Unilavras

**LAVRAS – MG
2021**

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, que sempre me conduziu com as devidas lições de amor, fraternidade, compaixão hoje e sempre;

Aos meus pais, Rosemar Aparecida Cardoso e Elias de Oliveira Severo, que sempre estiveram ao meu lado nas horas mais difíceis e felizes da minha vida;

Aos meus irmãos, Eveline de Oliveira Severo e Eduardo de Oliveira Severo, que sempre foram uma das minhas maiores alegrias;

À minha madrinha Matildes, pelo incentivo e dedicação que sempre teve por mim;

À minha prezada orientadora, profa. Dra. Mirelle, que sempre esteve disposta a ajudar e a enfrentar as dificuldades encontradas meio à pesquisa, por dedicar o seu tempo e sua sabedoria para o meu aprendizado;

Ao UNILAVRAS, por todo o apoio financeiro na concessão de bolsa pesquisa e por dispor de pessoas tão competentes para me ajudar na concretização deste trabalho;

Às ajudantes dos laboratórios de pesquisa do UNILAVRAS, Fátima, Agnes e Wellen, por também terem auxiliado grandemente na realização de todos os testes;

Ao Wanderley, surgindo sempre com novas ideias para enriquecer cada vez mais o projeto;

Por fim, sou grata a todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, participaram da realização desse projeto.

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso”.

John Rus

RESUMO

Introdução: A descoberta de fármacos naturais para o tratamento de candidíase bucal é de extrema importância atualmente, pois muitos dos tratamentos convencionais possuem resistência frente ao fungo. Óleos essenciais e extratos obtidos a partir de cravo da Índia tem revelado potencial antimicrobiano; no entanto, há carência de estudos que enfoquem a análise antifúngica in vitro e, principalmente, análise de formulações contendo este fitoterápico. **Objetivos:** Desenvolver e avaliar as características físico-químicas e o potencial antifúngico, frente a *Candida albicans*, de enxaguantes bucais contendo óleo e/ou extrato de *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia). **Metodologia:** Foram preparados extratos alcoólico, hidroalcoólico e aquoso a 30%, usando o botão floral seco. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação e amostras de óleo comerciais. Os extratos brutos, óleos e suas diluições foram testados frente à *Candida albicans* (ATCC10231) e *Candida sp.*, pelo método de difusão em ágar. Após determinação da concentração inibitória mínima (CIM), foram preparados enxaguantes nas concentrações ativas; óleo 1% (F1), 0,1% (F2) e 0,001% (F3) e extrato alcoólico bruto 50% (F4) e 25% (F5); sendo avaliados quanto a atividade antifúngica, qualidade macroscópica e físico-química. **Resultados:** Observou-se separação de fases nas Formulações 1 e 5. O enxaguante 4 e o controle positivo (F7) foram ativos frente as duas cepas testadas. **Conclusão:** O óleo essencial de cravo da Índia apresentou atividade contra *Candida*, sendo potencial candidato para prevenção de candidíase oral, sendo necessária a preparação de novas formulações, visando melhor incorporação/estabilidade do óleo e testes avaliando o efeito sinérgico entre óleo e extratos em menores concentrações.

Palavras-chave: Cravo da Índia; Antisséptico Bucal; Candidíase.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Teste de Susceptibilidade frente à <i>Candida albicans</i> ATCC10231	29
FIGURA 2 - Análise macroscópica das formulações.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das Formulações	24
Tabela 2 - Média dos halos de inibição do óleo essencial e extrato alcoólico 30% (15 dias) de Cravo da Índia e suas diluições	28
Tabela 3 - Densidade e pH das formulações.....	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Enxaguantes bucais.....	12
2.2 Fitoterapia.....	15
2.3 Cravo da Índia (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	17
2.4 Candidíase e microrganismos associados.....	19
2.4.1 Candidíase.....	19
2.4.2 <i>Candida albicans</i>	21
2.5 Controle da qualidade de cosméticos	22
3 MATERIAL E MÉTODO.....	23
3.1 Obtenção do óleo essencial, do material botânico e produção do extrato.....	23
3.2 Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	23
3.3 Preparo dos enxaguantes bucais	24
3.4 Avaliação da atividade antimicrobiana	25
3.4.1 Preparo das suspensões fúngicas.....	25
3.5 Testes Físico-químicos.....	26
3.5.1 Análise macroscópica	26
3.5.2 Análise do pH.....	26
3.5.3 Análise da densidade.....	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 Resultados.....	28
4.2 Discussão	31
5 CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	35

1 INTRODUÇÃO

Na cavidade oral, coabitam mais de 500 espécies de microrganismos, habitualmente comensais, embora, em determinadas circunstâncias, possam se tornar patogênicos. As infecções por *Candida* spp denominam-se, na literatura, de candidíases ou, mais recentemente, de Candidoses. A Candidose oral é uma infecção oportunista que geralmente, acomete indivíduos imunocomprometidos e diabéticos, sendo a *Candida albicans* a espécie mais associada à infecção (CORRÊA, ANDRADE, 2006; SOARES et al., 2019).

A existência de *Candida* spp. na cavidade oral é verificada em razão desses microrganismos constituírem leveduras pertencentes à microbiota normal do homem que, diante de um desequilíbrio microbiano, podem desenvolver infecções que estão associadas a fatores tais como: diminuição da imunidade, distúrbios endócrinos, lesões de tecidos moles, má higiene oral, terapia medicamentosa, entre outros (SIQUEIRA et al., 2014). Mesmo com os avanços nos tratamentos antifúngicos a taxa de mortalidade global bruta associada à candidemia varia entre 40 e 60% devido a intervenção terapêutica tardia e diferentes comorbidades apresentadas pelos pacientes (MONCADA et al., 2020; OHKI et al., 2020; POISSY et al., 2020).

Para o controle da candidose e das patologias decorrentes da sua presença diversos métodos são propostos, entre eles, os recursos mecânicos e químicos. O controle mecânico representa o método mais valioso 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 das infecções orais, como adjutórias aos procedimentos mecânicos (MONFRIN; RIBEIRO, 2000; GEBRAN; GEBERT, 2002; ADDY, 2005; PEREZ et al., 2011).

O uso de substâncias químicas antissépticas para a redução ou eliminação de microrganismos patogênicos da região oral é recomendado para pacientes com dificuldades operacionais frente ao controle mecânico. Elas estão incorporadas em dentifrícios ou em soluções para bochechos, sendo estes últimos denominados enxaguatórios ou colutórios (MONFRIN; RIBEIRO, 2000; GEBRAN; GEBERT, 2002).

As propriedades de um antisséptico ideal incluem: estabilidade, baixa tensão superficial, poder germicida e letal em baixas concentrações, ausência de toxicidade e poder de penetração. No entanto, nenhum produto disponível no mercado possui

todos os requisitos acima citados, o que justifica os efeitos colaterais ou a pouca eficiência apresentada por alguns (MONFRIN; RIBEIRO, 2000; BARDAL et al., 2011).

O uso de extratos vegetais e fitoquímicos com fins medicinais é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade; entretanto, no tocante à saúde bucal, ainda é um pouco negligenciada (FRANCISCO, 2010; ALMEIDA et al., 2012).

Na Odontologia, as pesquisas com produtos naturais têm aumentado nos últimos anos devido a busca por novos produtos com maior atividade farmacológica, com menor toxicidade e mais biocompatíveis, além de apresentarem custos mais acessíveis à população. A aceitação popular da fitoterapia leva a boas perspectivas no mercado de produtos odontológicos que contém substâncias naturais, ficando evidente a necessidade da avaliação e procura por meios alternativos e economicamente viáveis, sugerindo a utilização desta como um recurso de baixo custo dentro de programas preventivos e curativos (LIMA JÚNIOR et al., 2005; DRUMOND et al., 2004; COUTINHO et al., 2004; VARONI et al., 2012).

Uma das espécies vegetais avaliada ao longo do tempo como detentora de algumas propriedades biológicas importantes é o *Syzygium aromaticum*, conhecido popularmente como Cravo da Índia.

Os extratos do Cravo da Índia têm mostrado ação efetiva em estudos farmacológicos e suas aplicações populares se mostram eficazes; entretanto, há poucos trabalhos conclusivos em relação aos seus usos em produtos odontológicos, justificando-se a escolha desta preciosa especiaria.

Vale ressaltar que não há estudos avaliando a atividade de antissépticos bucais contendo óleo e/ou extrato de Cravo da Índia sobre *Candida albicans*, tornando o presente estudo inédito.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar características físico-químicas e o potencial antifúngico de enxaguantes bucais contendo óleo essencial e/ou extratos de *Syzygium aromaticum*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Enxaguantes bucais

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, surgiram no mercado os antissépticos bucais, também conhecidos como colutórios ou enxaguatórios (ANDRADE et.al., 2011).

O uso dos enxaguatórios bucais tem sido frequentemente indicado no controle químico da placa bacteriana, estrutura caracterizada como sendo uma massa densa, não calcificada, que serve como um depósito bacteriano, e que se encontra aderida ao dente, à película adquirida, aos cálculos dentais e as outras estruturas presentes na cavidade oral (MARINHO; ARAÚJO, 2007). Além do mais, têm indicação de uso para situações específicas entre os quais, os processos inflamatórios e infecciosos instalados na região bucofaríngea (BAUROTH et al., 2003).

Os enxaguatórios bucais correspondem ao meio mais simples para veiculação de substâncias antissépticas. Estes veículos são empregados como facilitadores da disseminação de compostos medicamentosos ativos destinados ao tratamento de afecções específicas, como a cárie e a doença periodontal, além de serem coadjuvantes dos procedimentos mecânicos de escovação (BAUROTH et al., 2003; BUGNO et al., 2006; NASCIMENTO et al., 2008).

O conhecimento pleno dos princípios ativos assegura a prescrição desses agentes de forma individual ou combinada frente às diferentes situações clínicas, em que pese 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 e Gissoni (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; ARAÚJO et al., 2015). A maioria dos agentes antimicrobianos veiculados no mercado promove o rompimento da parede celular, vindo a inibir, dessa forma, os complexos enzimáticos, o que culmina no comprometimento das atividades metabólicas microbianas (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, sendo de extrema relevância a informação 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, Araújo et al. (2015). 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., 2009).

Várias substâncias antimicrobianas são utilizadas sob a forma de enxaguatórios, tais como: fluoreto de sódio, cloreto de cetilpiridínio, triclosan, timol, clorexidina, tirotricina, dentre outras (MONFRIN; RIBEIRO, 2000; BUGNO et al., 2006; MARINHO; ARAÚJO, 2007; MOREIRA et al., 2009; ARAÚJO et al., 2012).

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. Na 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 nas marcas comerciais Cepacol e Oral B, é um composto monovalente, catiônico, tensoativo e pertence ao grupo dos compostos quaternários de amônia (MENDES; ZENÓBIO; PEREIRA, 1995; GONÇALVES, PINTO, 2013). 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; ARAUJO et al., 2015).

A clorexidina é uma biguanida 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; ZENÓBIO; PEREIRA, 1995; GEBRAN; GEBERT, 2002; SOUZA; ABREU, 2003; ARAUJO et al., 2015).

O triclosan 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 bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, 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 e ácido maléico). Essa associação é realizada para aumentar a sua presença na cavidade bucal, devido à baixa substantividade apresentada pelo antisséptico (GONÇALVES, PINTO, 2013; ARAUJO et al., 2015).

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; ZENÓBIO; PEREIRA, 1995; PITHON et al., 2011).

Visto os efeitos adversos das substâncias químicas atualmente utilizadas como antissépticos bucais, e a crescente busca por produtos à base de plantas medicinais, torna-se importante a busca por novas substâncias com finalidade antimicrobiana.

2.2 Fitoterapia

O uso de produtos naturais com propriedades terapêuticas é tão antigo quanto a civilização humana e, por um longo tempo, minerais, plantas e produtos animais foram as principais fontes de drogas para a população (BAJPAI; SHUKLA; KANG, 2008).

As plantas medicinais são um importante elemento da medicina indígena. Na Amazônia, por exemplo, os índios usam, pelo menos, 1.300 espécies de plantas. No Sudeste da Ásia, os curadores tradicionais utilizam 6.500 plantas diferentes para tratar malária, úlceras de estômago, sífilis e outras doenças (MORAIS; BRAZ-FILHO, 2007).

Das drogas prescritas mundialmente, cerca de 25% provêm de plantas, 121 dos compostos ativos são de uso corriqueiro. Das 252 drogas consideradas como básicas e essenciais pela Organização Mundial de Saúde, 11% são exclusivamente originárias de plantas (RATES, 2001).

Para enfatizar o benefício de certas plantas com propriedades medicinais, basta recordar que o princípio ativo do comprimido símbolo da alopatia, a aspirina, ácido acetil-salicílico (AAS), foi sintetizada por Gilm, em 1859, baseado na salicina, substância ativa da *Salix alba* L., conhecida como Salgueiro branco (CALIXTO et al., 2000; MORAIS; BRAZ-FILHO, 2007).

O Brasil é um país com grande diversidade biológica e cultural e que conta com um acúmulo considerável de conhecimentos e tecnologias tradicionais, entre os quais se destaca o vasto acervo de saberes sobre o manejo e utilização de plantas medicinais (OLIVEIRA et al., 2009).

Apesar das plantas medicinais já fazerem parte da cultura popular, nas últimas décadas o interesse pela Fitoterapia teve aumento considerável entre usuários, pesquisadores e serviços de saúde. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% da população dos países em desenvolvimento utiliza práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% usa plantas medicinais ou preparações destas. Desde então, a OMS tem expressado a sua posição a respeito da necessidade de valorizar a utilização de plantas medicinais no âmbito sanitário e na atenção básica à saúde (ROSA; CÂMARA; BÉRIA, 2011).

A automedicação “milagrosa” com plantas medicinais, a qual chegou ao extremo de substituir terapias tradicionais em doenças graves, é prática bastante

utilizada tanto em populações de baixa renda como único lenitivo para seus males, bem como nas camadas mais privilegiadas que gozam de facilidade sanitária e pronto atendimento médico, somente por puro modismo ou sob influência de grande exploração comercial. Assim, é necessária extrema atenção ao uso não controlado das plantas medicinais e seus devidos estudos de toxicidade para garantir o uso sem riscos para a espécie humana (DIKBAS et al., 2008).

A grande biodiversidade de espécies vegetais presentes no Brasil constitui uma de suas maiores riquezas e se destaca como fonte para obtenção de novas substâncias com finalidade terapêutica (KORDALI et al., 2008). A utilização de plantas no tratamento de diversas enfermidades, infecciosas ou não, é, na prática, bastante utilizada, visto que o Brasil possui sérios problemas de saúde pública, principalmente na região Nordeste, em razão do baixo poder aquisitivo de grande parte da população local. O alto custo dos medicamentos torna-os inacessíveis até mesmo nos mais simples casos, como dores agudas e/ou crônicas, febres e gripes (MACIEL; VIANA, 2005).

Portanto, o uso popular das plantas medicinais foi o primeiro passo para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos de baixo custo para o Nordeste, uma região tão carente de recursos financeiros e por outro lado, tão rica em flora que reúne milhares de espécies vegetais distintas (RABELO, 2002; MACIEL; VIANA, 2005).

Apesar do aumento dos estudos sobre plantas medicinais, somente de 15% a 17% foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal. Considerando a grande biodiversidade do Nordeste brasileiro, esse número poderia ser bem maior (ALMEIDA et al., 2006). No Ceará, inúmeras pesquisas foram desenvolvidas com o objetivo de comprovação científica de produtos naturais extraídos de plantas utilizadas pela medicina tradicional, dentre os quais citam-se os trabalhos de Lahlou, Leal e Magalhães (2000); Oliveira (2001); Bertini et al. (2005); Moraes et al. (2006); Almeida et al. (2006) e Botelho et al. (2007).

Com os avanços científicos, a expansão da indústria farmacêutica e o aumento da oferta de medicamentos, o consumo de plantas medicinais perdeu espaço para os medicamentos sintéticos (BRASILEIRO et al., 2008). Entretanto, o alto custo destes fármacos, o difícil acesso, os seus efeitos colaterais, bem como, nos dias atuais, o uso crescente de produtos de origem natural, contribuiram para o ressurgimento do uso de plantas medicinais (BALBINOT; VELASQUEZ; DUSMAN, 2013). A fitoterapia evoluiu e o conhecimento sobre o poder curativo das plantas não

pode mais ser considerado apenas como tradição passada entre gerações familiares, mas como ciência que vem sendo estudada, aperfeiçoada e aplicada ao longo dos tempos (TOMAZZONI; NEGRELLE; CENTA, 2006), sendo responsabilidade dos profissionais de saúde orientar a população quanto à utilização segura e racional dos fitoterápicos/ plantas medicinais (BADKE et al., 2011).

As principais causas do aumento na procura de produtos alternativos são: a medicina convencional pode ser ineficiente, abusiva e/ou, pelo uso incorreto de drogas sintéticas com efeitos secundários; uma grande parte da população mundial não tem acesso ao tratamento farmacológico convencional (RATES, 2001; KOTAN et al., 2008). Diante destes riscos, as plantas apresentam-se como uma alternativa natural visto que possuem, contra o ataque de patógenos, mecanismos de defesa baseados na produção de compostos específicos que lhes conferem resistência (MATOS, 2000; DIKBAS et al., 2008).

No tocante à saúde bucal a fitoterapia ainda é negligenciada. Entretanto, os produtos de higiene oral com ativos de origem vegetal estão sendo cada vez mais estudados com protocolos mais modernos que comprovem a eficácia da utilização de determinadas plantas no tratamento das doenças bucais com benefícios à população (LIMA JÚNIOR, 2005; DRUMOND et al. 2004; COUTINHO et al. 2004); evidenciando, mais uma vez, a importância deste trabalho.

2.3 Cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum* L.)

O Cravo-da-Índia pertence à família Myrtaceae e conta com um extenso número de espécies de árvores, sendo a espécie em estudo uma árvore de grande porte, chegando a atingir até 15 metros de altura. A copa é bem verde, de formato piramidal. As folhas são ovais, opostas e de coloração verde-brilhante. As flores são pequenas, branco-amareladas, agrupadas em cachos. O fruto é do tipo baga e de formato alongado, suculento, comestível e com aroma bem forte (SILVESTRI et al, 2010).

Os principais produtos derivados do Cravo-da-Índia disponíveis no mercado nacional hoje em dia são o óleo essencial puro ou produtos derivados dele, cuja principal aplicação é como anestésico local em Odontologia e o próprio botão floral seco que é usado como tempero. Os cravinhos utilizados na culinária são, na realidade, os botões florais ainda não abertos e secos, sendo cultivados em regiões quentes (AFFONSO et al., 2012).

Além de ser o componente mais abundante encontrado no extrato etanólico de *S. aromaticum*, o eugenol é também o responsável por grande parte dos efeitos farmacológicos atribuídos à planta. Seus efeitos terapêuticos conhecidos são: antifúngico, analgésico, contra verrugas, micoses, bronquite, dor de dente e cansaço (AFFONSO et al., 2012).

Dentre os diversos estudos realizados sobre as atividades farmacológicas apresentadas pelo *S. aromaticum*, a aplicação como anestésico bucal na Odontologia é o mais consagrado. Esta atividade vem sendo explorada há mais de dois mil anos, sendo este fitoterápico um dos principais ingredientes do cimento dental para restaurações temporárias nos dias de hoje (CHAIEB et al., 2007). Além disso, o óleo de cravo tem a vantagem de não irritar a mucosa e possuir maior facilidade de decomposição no meio ambiente (BILBAO; 2010).

O extrato etanólico de *S. aromaticum* apresentou inibição de até 90% em 100 µg/mL contra os vírus da hepatite C e efetividade contra o HSV (virus do herpes simplex) em camundongos (KUROKAWA et al., 1998; HUSSEIN et al., 2000).

Foi verificada a capacidade do eugenol em causar danos ao envelope viral, inibindo a sua replicação na fase inicial. O eugenol também mostrou efeito sinérgico quando associado ao aciclovir no combate ao herpes vírus em ratos (TRAGOOLPUA; JATISATIENR, 2007; PRAMOD; ANSARI; ALI, 2010).

O óleo de Cravo-da-Índia também apresentou acentuada atividade antimicrobiana, quando testado para os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* (diminuindo significativamente a taxa de crescimento) e *Staphylococcus epidermidis* (CHAIEB et al., 2007; VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002).

O principal mecanismo farmacológico descrito para o eugenol, quanto à sua ação bactericida é devido a sua alta penetrabilidade na membrana citoplasmática, promovendo seu rompimento e aumentando sua permeabilidade não específica, desta forma, gerando um extravasamento do conteúdo celular e posterior morte da bactéria. Vale ressaltar que os fármacos que promovem a destruição da membrana celular são muito importantes para o uso médico, pois possuem menor probabilidade de selecionar bactérias resistentes (DEVI et al., 2010).

Do ponto de vista toxicológico, toda substância pode ser considerada um agente tóxico, dependendo das condições de exposição, tais como a dose administrada ou absorvida, o tempo e a frequência de exposição e vias de

administração. Valente e colaboradores (2009) realizaram um estudo com o objetivo de estimar a toxidez aguda do extrato etanólico de *S. aromaticum* em ratos. O resultado mostrou uma letalidade progressiva e toxidez aguda por via intraperitoneal e oral.

O eugenol e o óleo de *S. aromaticum* mostraram boa tolerabilidade em contato com a pele e baixa alergenicidade quando adicionado a produtos de higiene pessoal e a perfumes. Com relação ao uso em produtos odontológicos, existe um baixo risco, mesmo com os indícios de toxicidade por ingestão a partir de 150 mg de eugenol, por um período de sete dias (VALENTE et al., 2009).

2.4 Candidíase e microrganismos associados

2.4.1 Candidíase ou Candidose

Candidíase ou Candidose oral é também conhecida como estomatite protética ou candidíase eritematosa, quando ocorre em casos relacionados a próteses totais ou próteses parciais removíveis. A estomatite por dentadura é a doença infecciosa mais comum que afeta a mucosa do palato e a crista alveolar que está em contato direto com a base da prótese (MUNEER et al., 2011). A taxa de desenvolvimento varia entre 25-67%, é mais prevalente em mulheres, e a prevalência é proporcional ao aumento da idade. Outros fatores que favorecem significativamente a causa da estomatite por prótese incluem oclusão traumática, má higiene oral e da prótese, período de uso da prótese, alergia ao monômero residual, tabagismo, boca seca, condições sistêmicas, diabetes e baixa imunidade do hospedeiro (NAIK; PAI, 2011).

Candida albicans é a espécie mais prevalente e patogênica entre os envolvidos no desenvolvimento da estomatite protética. *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* e *Candida guilliermondii* também podem fazer parte do curso da doença, no entanto, *C. albicans* representa mais de 80% dos isolados clínicos (SALERNO et al., 2011; BONA et al., 2016; VIEIRA et al., 2018; PIGATTO; LOVISON; CATTANI, 2019; LONE; AHMAD, 2020). Estas infecções causadas por leveduras podem ser classificadas como superficiais, cutâneas ou sistêmicas, e ainda primárias ou oportunistas (MONTES et al., 2019; ARRIOLA; ARBO, 2020).

A existência de *Candida spp.* na cavidade oral é verificada em razão desses microrganismos constituírem leveduras pertencentes à microbiota normal do homem.

Diante de um desequilíbrio microbiano, podem ser desenvolvidas infecções que estão associadas a fatores tais como: diminuição da imunidade, distúrbios endócrinos, lesões de tecidos moles, má higiene oral, terapia medicamentosa, entre outros (CORRÊA, ANDRADE, 2006; SIQUEIRA et al., 2014).

Ao longo dos últimos anos, a ocorrência de infecções fúngicas humanas vem apresentando um aumento expressivo. Vários fatores estão relacionados ao crescimento dessas infecções fúngicas, entre eles: o melhor diagnóstico laboratorial e clínico, o aumento da sobrevivência de pacientes com doenças imunossupressoras e o emprego de medicamentos imunossupressores utilizados, às vezes, de forma abusiva, permitindo a instalação de microrganismos convencionalmente saprófitos (SIDRIM; DIÓGENES; PAIXÃO, 1999; SIQUEIRA et al., 2014).

Quando o processo infeccioso da cavidade oral estiver instalado, o profissional deverá incorporar medidas de controle químico e mecânico dos nichos microbianos na tentativa de alcançar o equilíbrio da microbiota rapidamente, justificando assim o uso de antimicrobianos (FERES, 2010; NAVAS et al., 2009; MENEZES et al., 2008). Há diferentes formulações comerciais para a administração de antimicrobianos na cavidade oral, a exemplo de géis, dentifrícios, as pastilhas, chicletes e colutórios ou antissépticos bucais. Os enxaguantes bucais, por apresentarem componentes antimicrobianos, são considerados medidas complementares ao controle mecânico, sendo necessária indicação para uso (FERRARINI et al., 2007).

O tratamento da candidíase consiste na combinação de um agente antifúngico tópico ou sistêmico, orientação do paciente sobre higiene da prótese e exame para determinar se a prótese deve ser substituída. Nistatina e miconazol são os medicamentos iniciais de escolha. Nos casos em que o tratamento tópico não apresenta resultados, o tratamento sistêmico é iniciado e o fluconazol é o medicamento mais prescrito. No entanto, o uso de antifúngicos convencionais pode desencadear a ocorrência de certos fatores indesejáveis, como o surgimento de reações adversas e o aumento da resistência fúngica (ZORE et al., 2011).

O surgimento desses mecanismos de resistência, aliado ao reduzido número de antifúngicos atualmente disponíveis, impulsiona a busca de novas substâncias potenciais para uso no tratamento de infecções fúngicas, neste contexto, produtos de origem natural (NEWMAN, CRAGG, 2012; CAMARGO et al., 2016). Dentre as classes de compostos isolados de plantas com propriedades antibacterianas e

antifúngicas, os óleos essenciais apresentam a maior quantidade de fitoquímicos com propriedades biológicas ativas, apresentando grande diversidade em sua composição química, e sendo ativos contra uma variedade de microrganismos (SARTORATTO et al., 2004).

2.4.2 *Candida albicans*

Existe uma extensa variedade de síndromes clínicas causadas por um fungo do gênero *Candida*, constituído de aproximadamente 200 espécies diferentes de leveduras, que vivem normalmente nos mais diversos nichos corporais. Este gênero compreende espécies leveduriformes medindo aproximadamente de 2 a 6 μm e se reproduzem por brotamento; a maior parte das espécies forma pseudo-hifas e hifas nos tecidos. As colônias têm coloração branca a creme e possuem superfície lisa ou rugosa. *Candida albicans* é a espécie que mais comumente causa a infecção no ser humano (ALVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007; KAUFFMAN, NETO; 2005; PEIXOTO et al., 2014).

Espécies de *Candida* residem como comensais, fazendo parte da microbiota normal dos indivíduos saudáveis. Todavia, quando há uma ruptura no balanço normal da microbiota ou o sistema imune do hospedeiro encontra-se comprometido, as espécies do gênero *Candida* tendem a manifestações agressivas, tornando-se patogênicas. Quanto à origem, pode ser endógena, quando oriunda da microbiota; ou exógena, como uma doença sexualmente transmissível (BARBEDO; SGARBI, 2010)

A candidíase é a infecção fúngica oportunista mais comum, principalmente devido à onipresença deste fungo e também porque aumenta cada vez mais o número de pacientes com fatores de risco para infecção por essa levedura. Os indivíduos com neoplasia hematológica, neutropenia, usuários prévios de agentes citotóxicos e corticosteróides, correspondem aos indivíduos com risco de infecção grave por *Candida* (KAUFFMAN NETO, 2005).

A forma habitual de infecção por *Candida* é o deslocamento de seu nicho normal para a corrente sanguínea ou outros tecidos. A primeira tentativa de defesa do hospedeiro é a fagocitose e a destruição por neutrófilos, monócitos e macrófagos. Assim sendo, muitos mecanismos que operam no interior de neutrófilos e macrófagos provocam a destruição das leveduras. A imunidade celular também

participa na defesa contra a infecção por *Candida*, sendo que as células T são responsáveis pela imunidade em superfícies mucosas (KAUFFMAN NETO, 2005).

As manifestações clínicas da candidíase são variadas, podendo gerar uma infecção localizada de mucosas até uma doença disseminada potencialmente fatal. O principal fator que determina o tipo e extensão da infecção causada pela *Candida* é a resposta imunológica do paciente. Assim, a infecção acomete preferencialmente as crianças e as pessoas idosas, numa frequência de 5% dos recém-nascidos, 5% de pessoas com doenças neoplásicas e 10% dos pacientes idosos com saúde precária. Portanto, a candidíase é mais frequente em pessoas nos extremos da idade (KAUFFMAN, NETO, 2005).

2.5 Controle da qualidade de cosméticos

No Brasil, os enxaguatórios bucais são classificados como produtos de higiene pessoal e cosméticos. As formulações que apresentam indicações específicas como antissépticos, antiplacas e de uso infantil são classificadas como produtos de grau 2 e demandam a comprovação da sua segurança e eficácia antimicrobiana (BRASIL, 2012).

A avaliação da eficácia antimicrobiana dos antissépticos bucais pode ser realizada por testes *in vivo* ou *in vitro*. Os últimos geralmente são adaptações dos procedimentos de difusão em ágar, da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) ou de ensaios para a determinação do tempo de redução decimal (BOTELHO, 2000), não havendo, no Brasil, uma metodologia oficial para a avaliação da atividade antimicrobiana dos enxaguatórios bucais (BUGNO et al., 2006).

3 MATERIAL E MÉTODO

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

Botões florais secos de Cravo-da-Índia foram obtidos no comércio de Lavras – MG. Em seguida, 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.

A extração do óleo essencial foi realizada pelo método de hidrodestilação, utilizando o aparelho de Clevenger modificado. Para extração do óleo, 50g de botões florais de Cravo-da-Índia foram colocados em um balão volumétrico com 500 mL de água. Após o tempo de destilação (2h), o óleo, junto com a água, foi recolhido em um Becker e separado da água. Os óleos essenciais foram armazenados em frascos âmbar, até o momento de sua utilização. Amostras de óleo essencial também foram obtidas no comércio.

3.2 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A atividade antifúngica, determinada pela Concentração Inibitória Mínima, foi avaliada por meio da técnica de difusão em ágar, realizada conforme recomendações do CLSI (2015), com adaptações. Foram realizados repiques de *Candida albicans* (ATCC10231) e *Candida sp*, cedida pelo Laboratório Multidisciplinar de Biologia do Unilavras, em caldo Sabouraud e incubação a 36 °C, durante 18 horas. O inóculo foi preparado utilizando-se 100 µL de suspensão fúngica na concentração de 10⁶ células/.mL, padronizado de acordo com a turbidez 0,5 da escala de McFarland e confirmado em espectrofotômetro com densidade óptica de 530 nm . A seguir, o inóculo foi disperso com uma alça de Drigalski por toda a dimensão da placa de Petri (15 x 90 mm), contendo 20 mL de meio ágar Sabouraud.

Os óleos (extraído e comprado) foram testados na forma pura e em diluições a 10%, 1%, 0,1%, 0,01% e 0,001% para determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Os extratos brutos e suas diluições (1/2; 1/4; 1/8; 1/16; 1/32; 1/64; 1/128) também foram testados frente a *Candida albicans* (ATCC10231) e *Candida sp* doada pela Clínica Odontológica do Centro Universitário de Lavras.

A atividade antifúngica 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 *Candida albicans* e *Candida sp.*, 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, por 24 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 e extrato capaz de desenvolver um halo de inibição do crescimento fúngico maior ou igual a 8 mm de diâmetro, medido por uma régua milimetrada (SANTURIO et al., 2007). Como controle negativo foram usados os solventes utilizados na preparação dos extratos e diluições (álcool e Tween), e como controle positivo foi utilizada solução de nistatina (100000UI), um antifúngico convencional.

3.3 Preparo dos enxaguantes bucais

A Tabela 1 mostra como foram preparadas as formulações.

Tabela 1: Composição das formulações

COMPONENTES	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
Óleo extraído (mL)	1	0,1	0,01	-	-	-	-
Extrato alcoolico (mL)	-	-	-	50	25	-	-
Clorexidina (g)	-	-	-	-	-	-	0,12
Tween 20 (mL)	5	5	5	-	-	5	-
Glicerina (mL)	5	5	5	5	5	5	5%
Metil parabeno (g)	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Sacarina (g)	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Água qsp (mL)	100	100	100	100	100	100	100

Sendo: F1 = formulação 1; F2 = formulação 2; F3 = formulação 3; F4 = formulação 4; F5 = formulação 5; F6 = formulação 6; F7 = formulação 7.

Fonte: Arquivo pessoal da autora (2021).

As formulações 1, 2 e 3 foram preparadas com o óleo essencial de Cravo-da-Índia, nas concentrações de 1%, 0,1% e 0,01%, respectivamente. As formulações 4 e 5 foram preparadas com o extrato alcoólico de 15 dias, respectivamente, nas diluições $\frac{1}{2}$ (50%) e $\frac{1}{4}$ (25%). A formulação 6 não continha o extrato, nem o óleo, para verificar uma possível atividade dos demais componentes da formulação; e a formulação 7 continha nistatina, 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 consistiu em aquecer parte da água destilada e o metilparabeno a 65°C (para solubilização); solubilizar a sacarina em água destilada e adicionar glicerina. Na formulação 12 (controle positivo) adicionou-se a clorexidina. Nas formulações contendo extrato de cravo, este foi adicionado aos poucos, sob agitação vigorosa. O óleo de cravo foi previamente dispersado com o Tween e em seguida adicionado à formulação, sob agitação vigorosa. O pH foi ajustado na faixa de 4,00 a 5,00 e o volume completado com água destilada.

3.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

Os testes biológicos foram realizados com a cepa padrão de *Candida albicans* (ATCC 10231).

3.4.1 Preparo das suspensões fúngicas

Os inóculos fúngicos foram adaptados e padronizados segundo o documento do National Committee For Clinical Laboratory Standard - NCCLS M2-A8 (NCCLS, 2012).

As colônias foram obtidas através de culturas em Ágar Sabourand até a obtenção de turvação igual a escala 0,5 de Mc Farland, que equivale à aproximadamente 2×10^8 UFC/mL. Para este fim, 0,5mL de cloreto de bário a 1% foram adicionados em 99,5mL de ácido sulfúrico a 1%. A densidade do inóculo foi determinada por comparação em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 530nm e uma transmitância de 88%.

3.4.2 Padrão de sensibilidade frente à *Candida albicans*

A atividade biológica das formulações e dos extratos avaliados no presente estudo sobre *Candida sp* foi determinada pelo método de difusão em meio sólido, segundo Bauer et al. (1969) e as recomendações do National Commite for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2012) para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). A *Candida sp* foi cultivada em caldo nutritivo Sabourand liquido, incubada a 37°C por um período de 18-24 horas. Placas de Agar Sabourand

foram preparadas e após 24 horas, tempo necessário para controle de esterilidade, foram inundadas com solução salina inoculada com a cultura overnight do microrganismo em uma concentração de 10^{-8} . A seguir, foram confeccionadas no meio de cultura, orifícios de aproximadamente 6 mm de diâmetro, que receberam numerações. No orifício foi colocado um volume de 50 μ L das formulações 1, 2, 3, 4 e 5; 50 μ L do extrato, 20 μ do óleo e 50 μ L do líquido extrator (álcool etílico/água 6:4).

As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 25°C por um período de 24 horas. Após este período de incubação, a leitura foi realizada pela medida do halo de inibição com auxílio de paquímetro.

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

3.5 Testes Físico-químicos

3.5.1 Análise macroscópica

A análise macroscópica foi realizada observando-se as características organolépticas (cor e odor) e a homogeneidade do produto, a fim de avaliar as condições físicas das amostras.

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

3.5.2 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, aqueles com pH igual ou superior a 5,51.

3.5.3 Análise da densidade

A densidade baseia-se na razão entre a massa e o volume de uma dada amostra. A 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, enchê-lo completamente 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 deve-se enchê-lo completamente (picnômetro limpo e seco) com a amostra, evitando a formação de bolhas. Depois de secá-lo cuidadosamente, pesá-lo mais uma vez e o seu peso (M2) anotado. O cálculo da densidade foi feito utilizando-se 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 deve estar em valor de aproximadamente 1,000 g/mL.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Resultados

O óleo essencial de Cravo-da-Índia adquirido no comércio e os extratos hidroalcoólicos, obtidos por maceração por 24h e 15 dias, alcoólico (24h) e aquoso não apresentaram efeito antifúngico em nenhuma das concentrações testadas frente às cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 e *Candida sp.*

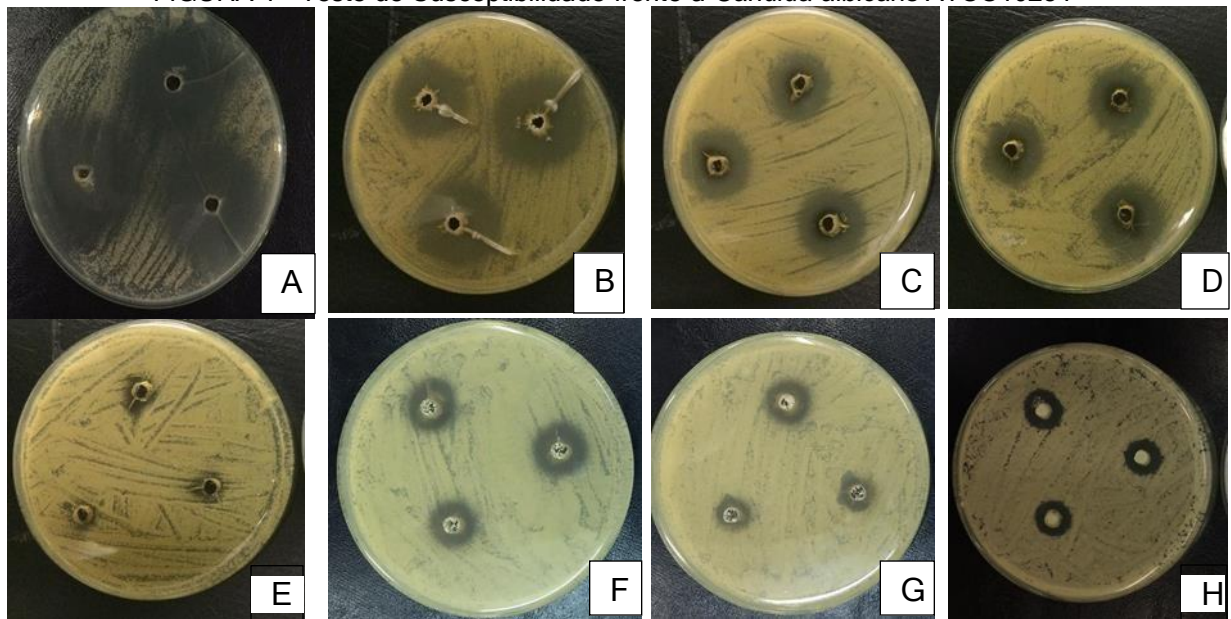
O óleo extraído neste trabalho mostrou-se ativo até a diluição 1/10.000 e o extrato alcoólico (macerado por 15 dias) até a diluição ¼, conforme apresentado na Tabela 2 e Figura 1.

TABELA 2 - Média dos halos de inibição do óleo essencial e extrato alcoólico 30% (15 dias) de cravo da Índia, e suas diluições.

	<i>Candida albicans</i> ATCC10231 Halo (mm)	<i>Candida sp</i> Halo (mm)
Óleo puro	30	40
Óleo 10%	28	30
Óleo 1%	22	27
Óleo 0,1%	14	17
Óleo 0,01%	0	11
Extrato alcoólico bruto (15 dias)	15	17
Ext. alcoólico 50% (15 dias)	13	10
Extrato alcoólico 25% (15 dias)	0	8
Alcool (controle negativo)	0	0
Tween (controle negativo)	0	0
Nistatina 100000UI (controle positivo)	11	12

Fonte: Arquivo pessoal da autora (2021).

Os enxaguantes foram preparados utilizando-se o óleo extraído a 1% (Formulação 1), 0,1% (Formulação 2) e 0,01% (Formulação 3) e extrato alcoólico bruto a 50% (Formulação 4) e 25% (Formulação 5). As formulações 6 (isenta de óleo e extrato) e 7 (contendo clorexidina a 0,12%) foram usadas como controle negativo e positivo, respectivamente.

FIGURA 1 - Teste de Susceptibilidade frente à *Candida albicans* ATCC10231

Sendo: (A) óleo puro, (B) óleo 10%, (C) óleo 1%, (D) óleo 0,1% , (E) óleo 0,01%, (F) Extrato alcoólico bruto, (G) extrato alcoólico 50% e (H) Nistatina.

Fonte: Arquivo pessoal da autora (2021).

Com relação à atividade antifúngica dos enxaguantes, as formulações 1 e 5 não foram testadas, devido à instabilidade físico-química apresentada; as formulações 2, 3 e o controle negativo (F6) não apresentam atividade frente as cepas testadas e a Formulação 4 foi ativa frente à *Candida albicans* (ATCC10231), apresentando halo médio de 13 mm, e *Candida sp* (halo = 15mm). A Formulação 7 (controle positivo) também mostrou-se ativa frente as duas cepas testadas; com halos médios de 14mm (*Candida albicans*) e 15mm (*Candida sp*).

A Formulação 1 apresentou-se instável, havendo separação do óleo; e as formulações 4 e 5 apresentaram-se turvas, provavelmente devido a grande quantidade de álcool na formulação, havendo precipitação de partículas na formulação 5 (Figura 2).

FIGURA 2 - Análise macroscópica das formulações.



Fonte: Arquivo pessoal da autora (2021).

Preconiza-se o uso de enxaguantes com pH ácido e densidade de aproximadamente 1,000g/mL. Os enxaguantes obtidos (exceto F4) apresentaram densidade satisfatória. Todas as formulações foram classificadas, de acordo com o pH, em potencialmente erosivos; pois apresentaram pH inferior a 5,50 (Tabela 3).

TABELA 3 - Densidade e pH das formulações

	pH após 3dias	Densidade
Formulação 1	4,92	1,017
Formulação 2	4,45	1,018
Formulação 3	4,03	1,018
Formulação 4	2,09	-*
Formulação 5	2,30	0,979
Formulação 6	4,46	1,010
Formulação 7	4,39	1,014

Sendo:* quantidade insuficiente para fazer o teste.

Fonte: Arquivo pessoal da autora (2021).

4.2 Discussão

O óleo puro extraído neste trabalho apresentou halo médio de 30 mm sobre *Candida albicans*, mostrando-se ativo até a diluição 1/10.000. Fu e colaboradores (2007) também observaram atividade antifúngica do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (cravo) contra cepas de *C. albicans*, com halos de inibição de 32mm; resultado semelhante ao descrito nesta investigação. Vale ressaltar que a atividade antifúngica dos óleos essenciais é considerada positiva quando a média aritmética dos halos de inibição alcançar valores superiores ou iguais a 10 mm de diâmetro (DEORUKHKAR; SAINI, 2015).

O papel dos componentes do óleo nessa atividade fungicida ainda não está completamente esclarecido (ROSATO et al., 2009). Sabe-se que o eugenol, principal constituinte do óleo de cravo, devido ao seu caráter lipofílico apresenta a capacidade de entrar em cadeias que compõem as bicamadas lipídicas da membrana, alterando sua fluidez e a permeabilidade das membranas celulares, afetando assim, a atividade e a regulação de importantes enzimas da membrana que catalisam a síntese de uma série de componentes principais de polissacarídeos da parede celular, interferindo no crescimento celular e na morfogênese (BRAGA et al., 2007; AHMAD et al., 2010; CAVALCANTI; ALMEIDA; PADILHA, 2011).

O extrato alcoólico a 30%, macerado por 15 dias, também mostrou-se ativo frente às leveduras testadas, com halo médio de 15 mm (*Candida albicans*) e 17 mm (*Candida sp.*). Resultado semelhante foi observado por Menezes et al. (2009), que ao avaliarem a atividade do extrato de *Syzygium aromaticum* frente cepa de *Candida albicans*, observaram a formação de halo de inibição de 18 mm. Os extratos obtidos por maceração por 24 horas não apresentaram atividade, evidenciando a influência do tempo de contato com o líquido extrator para obtenção dos fitoconstituintes.

No presente estudo, apesar dos óleos e extratos in natura de Cravo-da-Índia e suas diluições apresentaram-se eficazes no combate às cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 e *Candida sp.* (Tabela 2), os mesmos resultados não foram observados nas formulações propostas (exceto formulação contendo extrato alcoólico 50%). Uma possível explicação seria a incompatibilidade entre os componentes da formulação, uma vez que Ferreira (2011) afirmou que a presença do Tween, tensoativo usado na formulações contendo óleo, pode comprometer a atividade presente em um ou mais componentes de fórmulas farmacêuticas.

Importante enfatizar a possibilidade desse resultado ter sido influenciado por características intrínsecas desse grupo de óleos vegetais, tais como volatilidade, instabilidade e complexidade química e/ou por interferências exteriores, conforme cita Castro e Lima (2010).

A formulação 4 apresentou atividade sobre as cepas testadas, entretanto, o alto teor de álcool torna seu uso inviável, justificando a realização de testes com formulações contendo baixos teores de extrato + óleo, visando avaliar um possível efeito sinérgico.

Um estudo *in vitro* realizado por Botelho et al. (2007) avaliou a atividade antimicrobiana do timol, um óleo essencial presente em antissépticos bucais comerciais, e revelou halos de inibição de 10,6 mm em relação à *Candida albicans*, valores esses inferiores ao encontrados no presente estudo (halo médio = 30mm). Estes dados evidenciam a necessidade de ajustes nas formulações visando obter enxaguantes ativos com óleo essencial de Cravo-da-Índia.

Torna-se importante evidenciar que a metodologia de difusão em ágar empregada é validada por outros estudos, os quais também avaliaram a atividade antimicrobiana de formulações comerciais ou de produtos naturais (DRUMOND et al., 2004; COSTA et al., 2008; CAVALCANTI et al., 2005). Porém, o presente trabalho apresenta limitações no sentido de que as propriedades físico-químicas dos produtos podem influenciar a difusão dos mesmos no meio de cultura e, dessa forma, interferir nos resultados da avaliação antimicrobiana conforme trabalhos de Nascimento et al. (2008) e Ostrosky-Zeichner; e Pappas (2008).

Outro ponto evidente foi a instabilidade verificada no enxaguante 1, que continha 1% de óleo, sendo necessário a preparação e avaliação de novas formulações substituindo o tensoativo utilizado.

Com relação às propriedades físico-químicas, deve-se realizar ajustes no pH dos enxaguantes ou adicionar tampões para manutenção do pH em valores acima de 5,5, pois sabe-se que formulações com pH inferior a 5,5 estão associados ao processo de erosão e desgaste do esmalte dentário. O processo de erosão e o fenômeno carioso, apesar de promover desmineralização das estruturas dentárias, dificilmente ocorrem ao mesmo tempo, segundo Amaechi e Higham (2005). Porém, dependendo da frequência de exposição a ácidos e do grau de erosão, a associação desse fenômeno à microbiota oral poderia levar a predisposição a cárie, conforme

citam Neville et al. (2004). Assim, o uso desses enxaguatórios potencialmente erosivos promoveria a instalação de infecções bucais.

O pH encontrado nas formulações 4 e 5 poderia justificar o aspecto turvo com precipitação nessas formulações evidenciando novamente, a necessidade do ajuste do pH.

5 CONCLUSÃO

O óleo essencial de Cravo-da-Índia apresentou-se ativo contra *Candida*, sendo potencial candidato para prevenção de candidíase/candidose oral. Entretanto, há a necessidade de preparação de novas formulações, substituindo o tensoativo utilizado, visando melhor incorporação e estabilidade do óleo, e testes avaliando um possível efeito sinérgico entre o óleo e menores concentrações dos extratos.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ADDY, M. O uso de antissépticos na terapia periodontal. In: LINDHE, J. **Tratado de Periodontia**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.450-477.
- AFFONSO, R. S. et al. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, v.4, n.2, p.146-161, 2012. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v4n2a05.pdf> Acesso em: 10 ago. 2021.
- AHMAD, A. et al. In vitro synergy of eugenol and methyleugenol with fluconazole against clinical Candida isolates. **Journal of Medical Microbiology**. v.59, p.1178-1184, 2010. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/JMMAijazsynergypaper.pdf> Acesso em: 15 ago. 2021.
- ALMEIDA, C. F. C. B. R. et al. Medical plants popularly used in the Xingó region – a semi-arid location in Northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Etnomedicine**, v.15, p.1-7, 2006. Disponível em: <https://ethnobiomed.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-4269-2-15> Acesso em: 05 ago. 2021.
- ALMEIDA, L. F. D. et al. Efeito antifúngico de tinturas de própolis e romã sobre espécies de Candida. **Revista Cubana de Estomatologia**, v 26, n.2, p.99-106, 2012. Disponível em: <http://scielo.sld.cu/pdf/est/v49n2/est03212.pdf> Acesso em: 05 ago. 2021.
- ÁLVARES, C. A.; SVIDZINSKI, T. I. E.; CONSOLARO, M. E. L. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v.43, n.5, p.319-327, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpm/a/zv8qWLFBRYXNHkby7QK3Yk/abstract/?lang=pt> Acesso em: 15 ago. 2021.
- AMAECHEI, B. T.; HIGHAM, S. M. Dental erosion: Possible approaches to prevention and control. **Journal of Dentistry**, v.33, n.3, p.243-252, 2005. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Dental20erosion20possible20approaches.pdf> Acesso em: 15 ago. 2021.
- ANDRADE, I. P. et al. Concentração inibitória mínima de antissépticos bucais em microrganismos da cavidade oral. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, Vitória, v.13, n.3, p.10-16, 2011. Disponível em: <https://periodicos.ufes.br/rbps/article/view/1761/1328> Acesso em: 10 ago. 2021.
- ARAUJO, D. B. et al. Mouthrinses: active ingredients, pharmacological properties and indications. **Revista Gaúcha de Odontologia**, Porto Alegre, v.60, n.3, p.349-357, 2012. Disponível em: http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-86372012000300011 Acesso em: 10 ago. 2021.

ARAÚJO, D. B. et al. Estudo dos enxaguatórios bucais disponíveis nas drogarias, farmácias e supermercados na cidade do Salvador, BA. **Revista Bahiana de Odontologia**, v.6, n.1, p.14-33, abr., 2015. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/656-Texto%20do%20Artigo-2273-1-10-20150903.pdf> Acesso em: 20 ago. 2021.

ARRIOLA, A.; ARBO, A. Factores de riesgo potenciales en infecciones sistémicas por Candida sp. **Revista del Instituto de Medicina Tropical**, v.15, n.2, p.5-12, 2020. Disponível em: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?pid=S1996-36962020000200005&script=sci_abstract&tlng=pt Acesso em: 05 set. 2021.

BADKE, M. R. et al. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery**, v.15, n.1, p.132-139, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ean/a/vYCDk9RncDCsynFSSdnZXBP/?lang=pt> Acesso em: 30 jul. 2021.

BAJPAI, V. K.; SHUKLA, S.; KANG, S. C. Chemical composition and antifungal activity of essential oil and various extract of Silene armeria L. **Bioresource Technology**, v.99, n.18, p.8903-8908, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18538562/> Acesso em: 14 ago. 2021.

BALBINOT, S.; VELASQUEZ, P. G.; DUSMAN, E. Reconhecimento e uso de plantas medicinais pelos idosos do Município de Marmeleiro- Paraná. **Revista Brasileira PI Medicinai**s, Campinas, v.15, n.4, p.632-638, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/Dhx6MDRYkhndLrTp7sGRmb/?lang=pt&format=pdf> Acesso em: 15 ago. 2021.

BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. B. G. Candidíase. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Rio de Janeiro: v.22, n.1, p.22-38, 2010. Disponível em: <http://ole.uff.br/wp-content/uploads/sites/303/2018/02/r22-1-2010-4-Candidiase.pdf> Acesso em: 15 ago. 2021.

BARDAL, P. A. P. et al. Educação e motivação em saúde bucal: Prevenindo doenças e promovendo saúde em pacientes sob tratamento ortodôntico. **Dental Press Journal Of Orthodontics**, Maringá, v.16, n.3, p.95-102, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/dpjo/a/sPz7CyqVrwCXRkKbCcVPdr/?lang=pt&format=pdf> Acesso em: 25 jul. 2021.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic by standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**. v.45, p. 493-496, 1966. Disponível em: https://academic.oup.com/ajcp/article-abstract/45/4_ts/493/4821085 Acesso em: 10 jul. 2021.

BAUROTH, K. et al. The efficacy of an essential oil antiseptic mouthrinse vs. dental floss in controlling interproximal gingivitis: a comparative study. **Journal of the American Dental Association**, Chicago, v.134, n.3, p.359-365, 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12699051/> Acesso em: 20 ago. 2021.

BERTINI, L. M. et al. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do Nordeste do Brasil. **Infarma**, v.17, p.80- 83, 2005. Disponível em:

<http://revistas.cff.org.br/?journal=infarma&page=article&op=view&path%5B%5D=285&path%5B%5D=274> Acesso em: 20 ago. 2021.

BONA, E. et al. Sensitivity of *Candida albicans* to essential oils: are they an alternative to antifungal agents? **Journal of Applied Microbiology**. v.121, n.6, p.1530-1545, 2016. Disponível em:

<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jam.13282> Acesso em: 10 ago. 2021.

BOTELHO, M. A. et al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v.40, p.349-356, 2007. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/bjmr/a/pJxYMYWyNgQxDn77q5BHb8y/?lang=en> Acesso em: 20 ago. 2021.

BOTELHO, M. G. Fractional inhibitory concentration index of combinations of antibacterial agents against cariogenic organisms. **Journal of Dentistry**, Kidlington, v.28, p.565-570, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11082524/> Acesso em: 18 ago. 2021.

BRAGA, P. C. et al. Eugenol and thymol, alone or in combination, induce morphological alterations in the envelope of *Candida albicans*. **Fitoterapia**. v.78, p.396-400, 2007. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0367326X07001050?via%3Dihub> Acesso em: 20 ago. 2021.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para avaliação de segurança de produtos cosméticos**. Brasília, DF: Anvisa, 2012. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Guia%20para%20Avalia%C3%A7%C3%A3o%20de%20Seguran%C3%A7a%20de%20Produtos%20Cosm%C3%A9ticos.pdf> Acesso em: 13 set. 2021.

BRASILEIRO, B. G. et al. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no programa de saúde da família de Governador Valadares-MG Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.4, p.629-636, 2008. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/rbcf/a/TwBRyGvxZsHRXKvSBgdBYPc/abstract/?lang=pt> Acesso em: 25 ago. 2021.

BUGNO, A. et al. Enxaguatórios bucais: avaliação da eficácia antimicrobiana de produtos comercialmente disponíveis. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**., São Paulo, v.65, n.1, p.40-5, 2006. Disponível em: [https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/revista-do-instituto-adolfo-lutz/65-\(2006\)-1/enxaguatorios-bucais-avaliacao-da-eficacia-antimicrobiana-de-produtos-/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/revista-do-instituto-adolfo-lutz/65-(2006)-1/enxaguatorios-bucais-avaliacao-da-eficacia-antimicrobiana-de-produtos-/) Acesso em: 20 ago. 2021.

CALIXTO, J. B. et al. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. **Rev. Phytotherapy**, v.14, p.401-418, 2000. Disponível em: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1099-1573\(200009\)14:6%3C401::AID-PTR762%3E3.0.CO;2-H](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1099-1573(200009)14:6%3C401::AID-PTR762%3E3.0.CO;2-H) Acesso em: 20 ago. 2021.

CAMARGO, L. E. A. et al. Antioxidant and antifungal activities of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze leaves obtained by different forms of production. **Brazilian Journal of Biology**, v.76, n.2, p.428-434, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/TFVvGw7zv7f5kzzbG38x93d/?lang=en> Acesso em: 20 ago. 2021.

CASTRO, R. D.; LIMA, E. O. Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* L. sobre *Candida* spp. **Revista de Odontologia da UNESP**, v.39, n.3, p.179-184, 2010. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-874547> Acesso em: 25 jul. 2021.

CAVALCANTI, S. et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* introduced into intensive care units of a university hospital. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.9, n.1, p.56- 63, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjid/a/zzYM6q4DbTwP9qyzqBt8WCR/?lang=en> Acesso em: 20 jul. 2021.

CAVALCANTI, Y. W; ALMEIDA, L. F. D; PADILHA, W. W. N. Atividade Antifúngica de Três Óleos Essenciais Sobre Cepas de *Candida*. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v.20, n.52, p.68-73, 2011. Disponível em: <https://www.robrac.org.br/seer/index.php/ROBRAC/article/view/519/536>

CHAIIEB, K. et al. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. **Phytotherapy Research**, v.21, n.6, p.501-506, Jun., 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/ptr.2124> Acesso em: 11 ago. 2021.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard-Tenth Edition**. Wayne, CLSI document M02-A10, v.35, n.1, 2015. Disponível em: https://clsi.org/media/1631/m02a12_sample.pdf Acesso em: 20 fev. 2021.

COSTA, J. G. M. et al. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.18, n.4, p.583-586, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/fVCCzQ4pGC3kKMzZwvtZsdC/?lang=pt> Acesso em: 10 ago. 2021.

CORRÊA, E. M.; ANDRADE, E. D. Tratamento odontológico em pacientes HIV/AIDS. **Odonto Ciência**. v.20, n.49, p.281-289, 2006. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/1138-Article%20Text-4153-2-10-20110621.pdf> Acesso em: 15 jul. 2021.

DEORUKHKAR, S. C.; SAINI, S. Virulence factors attributed to pathogenicity of non albicans *Candida* species isolated from Human Immunodeficiency virus infected patients with oropharyngeal candidiasis. **Annals of Pathology and Laboratory Medicine**, v.2, n.2, p.62-66, 2015. Disponível em:

<https://www.pacificjournals.com/journal/index.php/apalm/article/view/151> Acesso em: 20 ago. 2021.

DEVI, K. P. et al. Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. **Journal of Ethnopharmacology**, v.130, n.1, p.107-115, Jul., 2010. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20435121/> Acesso em: 15 ago. 2021.

DIKBAS, N. et al. Control of *Aspergillus flavus* with essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis*. **International Journal of Food Microbiology**, v.124, p.179-182, 2008. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160508001293> Acesso em: 25 jul. 2021.

DRUMOND, M. R. S. et al. Estudo comparativo in vitro da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**. v.4, n.1, p.33-38, 2004. Disponível em:

<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-872746> Acesso em: 25 ago. 2021.

FERES, M. Controle diário do Biofilme com antissépticos - Uma visão atual para a prática clínica. Enxaguatórios o dia a dia do dentista. **Revista da ABO Nacional**. v.18, p.3-8, 2010.

FERRARINI, M. et al. Influência do Kollidon® 90F e do Polyox® WSR301NF na força de adesão de comprimidos bucais de clorexidina. **Latin American Journal of Pharmacy**. v.26, n.4, p.541-547, 2007. Disponível em:

http://www.latamjpharm.org/trabajos/26/4/LAJOP_26_4_1_9_NJYC729U01.pdf Acesso em: 28 jul. 2021.

FERREIRA, M. **Avaliação da atividade antimicrobiana de *Lippia sidoides*, *Chamaecrista nictitans* e *Stryphnodendron adstringens* (mart.) Coville**. 2011. Monografia (Graduação em Farmácia Bioquímica) - Centro Universitário de Lavras, Unilavras, Lavras, 2011.

FERREIRA, M. F. **Higiene Individual**. São Paulo: Lisboa, 2002.

FRANCISCO, K. S. F. Fitoterapia: Uma opção para o tratamento odontológico. **Saúde**, v.4, n.1, p.18-24, 2010. Disponível em:

<http://revistas.ung.br/index.php/saude/article/view/432/616> Acesso em: 10 ago. 2021.

FU, Y. J. et al. Antimicrobial Activity of Clove and Rosemary Essential Oils Alone and in Combination. **Phytotherapy Research**, v.21, p.989-994, 2007. Disponível em:

<https://www.semanticscholar.org/paper/Antimicrobial-activity-of-clove-and-rosemary->

[oils-Fu-Zu/8d820c971853d63b5321d4c6be6d12d37fc4e015](https://doi.org/10.1590/1981-8122-2021-0015) Acesso em: 15 ago. 2021.

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. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/285505183_Control_e_mecanico_de_placa_bacteriana#:~:text=O%20uso%20de%20subst%C3%A2ncias%20qu%C3%ADmicas,GEHRAN%3B%20GEBERT%2C%202002\)%20](https://www.researchgate.net/publication/285505183_Control_e_mecanico_de_placa_bacteriana#:~:text=O%20uso%20de%20subst%C3%A2ncias%20qu%C3%ADmicas,GEHRAN%3B%20GEBERT%2C%202002)%20). Acesso em: 15 jul. 2021.

GRANJEIRO, J. M. et al. O cloreto de cetilpiridínio e a placa bacteriana: uma revisão. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, v.46, n.5, p.857-860, 1993. Disponível em:

<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-855519> Acesso em: 10 jun. 2021.

GONÇALVES, E. A.; PINTO, A. P. F. Avaliação da eficácia antimicrobiana dos enxaguatórios bucais contendo como princípios ativos o triclosan, cloreto de cetilpiridínio e óleos essenciais. **HU Revista**, Juiz de Fora, v. 39, n. 3/4, p.45-50, 2013. Disponível em:

<https://periodicos.uff.br/index.php/hurevista/article/view/2145/766> Acesso em: 20 ago. 2021.

HUSSEIN, G. et al. Inhibitory effects of Sudanese medicinal plant extracts on hepatitis C virus (HCV) protease. **Phytotherapy Research**, v.14, n.7, p.510-516, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11054840/> Acesso em: 15 ago. 2021.

KAUFFMAN, C. A. Candidíase. In: GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. **Cecil: Tratado de Medicina Interna**. 22. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

KORDALI, S. et al. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from *Turkish Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. **Bioresource Technology**, v.99, n.18, p.8788-8795, Dec., 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18513954/> Acesso em: 10 ago. 2021.

KOTAN, R. et al. Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC. Ex Benth. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.36, p.360-368, 2008. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197807002591> Acesso em: 10 set. 2021.

KUROKOWA, M. et al. Purification and characterization of eugenin as an anti-herpesvirus compound from *Geum japonicum* and *Syzygium aromaticum*. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.284, n.2, p.728-735, Feb., 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9454821/> Acesso em: 15 ago. 2021.

LAHLOU, S.; LEAL-CARDOSO, J. H.; MAGALHÃES, P. J. Essential oil of *Croton nepetaefolius* decreases blood pressure through an action upon vascular smooth muscle: studies in DOCA-salt hypertensive rats. **Planta Medica**. v.66, p.138-143, 2000. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2000-11133> Acesso em; 10 set. 2021.

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. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/gGgyWynvMvkQMDZpqfPgSsy/?lang=pt> Acesso em: 10 ago. 2021.

LONE, S. A.; AHMAD, A. Inhibitory effect of novel Eugenol Tosylate Congeners on pathogenicity of *Candida albicans*. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 20, n.131, 2020. Disponível em: <https://bmccomplementmedtherapies.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-020-02929-0> Acesso em: 10 set. 2021.

MACIEL, A. S.; VIANA, J. A. Dermatofitose em cães e gatos: primeira parte. **Revista Clínica Veterinária**, v.57, p.74-82, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/7y6WHZdmX3YbjPnf8rTGx7h/?lang=pt&format=pdf> Acesso em: 10 ago. 2021.

MARINHO, B. V. S.; ARAÚJO, A. C. S. O uso dos enxaguatórios bucais sobre a gengivite e o biofilme dental. **International Journal of Dentistry**, Recife, v.6, n.4, p.124-131, 2007. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/13895-35558-1-PB.pdf> Acesso em: 10 ago. 2021.

MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais** - Guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. 2 ed. Fortaleza: Imprensa Universitária UFC, 2000.

MENEZES, M. M. et al. Concentração fungicida mínima das soluções de clorexidina e hipoclorito de sódio sobre *Candida albicans*. **Ciencia Odontológica Brasileira**, v.11, n.2, p.23-28, 2008. Disponível em: <https://bds.ict.unesp.br/index.php/cob/article/view/457/380> Acesso em: 10 set. 2021.

MENEZES, T. O. de A. et al.. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Revista de Odontologia da UNESP**, v.38, n.3, p.184-191, 2009. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-874766> Acesso em: 10 ago. 2021.

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. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-853568> Acesso em: 25 ago. 2021.

MORAIS, S. M.; BRAZ-FILHO. **Produtos Naturais** - estudos químicos e biológicos. 1. ed. Fortaleza: EdUECE, 2007.

MORAIS, S. M. et al. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 22, n.1, p.161-164, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16646345/> Acesso em: 10 set. 2021.

MOREIRA, A. C. A. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v.8, n.2, p. 153-161, 2009. Disponível em: <https://periodicos.ufba.br/index.php/cmbio/article/view/4065/2963> Acesso em: 25 ago. 2021.

MONCADA, P. A. et al. Infección invasiva por *Candida* spp. En pacientes inmunocomprometidos: Descripción de curso clínico experiencia diagnóstica, manejo y seguimiento en centro de alta complejidad. **Infectio**, v.24, n.3, p.143-148, 2020. Disponível em: <https://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/858/915> Acesso em: 10 set. 2021.

MONFRIN, R. C. P.; RIBEIRO, M. C. Avaliação in vitro de antissépticos bucais sobre a microbiota da saliva. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**. São Paulo, v.54, p.400-407. set./out., 2000. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=283672&indexSearch=ID> Acesso em: 25 ago. 2021.

MONTES, K. et al. Identification of *Candida* Species from Clinical Samples in a Honduran Tertiary Hospital. **Patógenos**, v.8, n. 4, p. 237, 2019. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/pathogens-08-00237.pdf> Acesso em: 10 ago. 2021.

MUNEER, M. U. et al. Candidal count in patients with complete dental prostheses. **Pakistan Oral & Dental Journal**, v.31, n.1, p.207-209, 2011. Disponível em: http://podj.com.pk/archive/Jul_2011/47-Podj.pdf Acesso em: 21 ago. 2021.

NAIK, A. V.; PAI, R. C. A study of factors contributing to denture stomatitis in a North Indian community. **International Journal of Dentistry**, p.1-4, 2011. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/IJD2011-589064.pdf> Acesso em: 11 ago. 2021.

NASCIMENTO, A. P. et al. Efficacy of mouthrinse spray in inhibiting cariogenic biofilm formation on toothbrush bristles. **Brazilian Journal of Oral Sciences**, Piracicaba, v.7, n.24, p.1989-1992, 2008. Disponível em: <https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/58048/1/os08004.pdf> Acesso em: 10 ago. 2021.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARD/ NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**; Approved

Standard - Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 Wayne, Pennsylvania: NCCLS, 2012. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/01-CLSI-M02-A11-2012.pdf>
Acesso em: 20 ago. 2021.

NAVAS, E. A. F. A. et al. Avaliação da utilização de limpador de língua na redução dos níveis de leveduras na cavidade bucal. **Revista de Odontologia da UNESP**, v.38, n.2, p.99-103, 2009. Disponível em: <https://www.revodontolunesp.com.br/article/588018897f8c9d0a098b4cbf/pdf/rou-38-2-99.pdf> Acesso em: 15 ago. 2021.

NEVILLE, B.W. et al. **Patologia: Oral & Maxilofacial**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v.75, n.3, p.311-335, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3721181/>
Acesso em: 20 jul. 2021.

OHKI, S. et al. Impact of host- and early treatment-related factors on mortality in ICU patients with candidemia: a bicentric retrospective observational study. **Journal of Intensive Care**, v.8, n. 30, 2020. Disponível em: <https://jintensivecare.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40560-020-00450-7>
Acesso em: 05 ago. 2021.

OLIVEIRA, A. C. Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton zenhnteri* in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.34, p.1471-1474, 2001. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjmbr/a/Cbbvt4mLgKGMKqD5hfGdKKn/?lang=en> Acesso em: 10 jul. 2021.

OLIVEIRA, F.C. et al. Avanços nas pesquisas etnobotânicas no Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v 2, n 23, p.590-605, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abb/a/QkXGmDHvNdZQPvPqJRx6GdM/?lang=pt> Acesso em: 25 jul. 2021.

OSTROSKY-ZEICHNER, L., PAPPAS, P. G. Invasive candidiasis in the intensive care unit. **Critical Care Medicine**. v.34, n.3, p.857-863, 2006. Disponível em: https://journals.lww.com/ccmjournal/Abstract/2006/03000/Invasive_candidiasis_in_the_intensive_care_unit.40.aspx Acesso em: 15 ago. 2021.

PEIXOTO, J. V. et al. Candidíase - uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v.8, n.2, p.75-82, jun./ago., 2014. Disponível em: https://www.mastereditora.com.br/periodico/20141001_074435.pdf Acesso em: 20 ago. 2021.

PÉREZ, A. L. A. de L. et al. Atividade Antifúngica de Antissépticos Buciais sobre *Candida* spp. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v.15, n.1, p.69-74, 2011. Disponível em: <https://periodicos.ufpb.br/index.php/rbcs/article/view/10449/5817>
Acesso em: 10 ago. 2021.

PIGATTO, G.; LOVISON, O. V. A.; CATTANI, F. Prevalência de infecções fúngicas em um laboratório de análises clínicas da cidade de Veranópolis, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.51, n.3, p.202-207, 2019. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/artigos/prevalencia-de-infeccoes-fungicas-em-um-laboratorio-de-analises-clinicas-da-cidade-de-veranopolis-rio-grande-do-sul/> Acesso em: 12 ago. 2021.

PITHON, M. M. et al. Avaliação in vitro da citotoxicidade de enxaguatórios bucais Listerine. **Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial**, Camaragibe, v.11, n.4, p.83-88, 2011. Disponível em: http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-52102011000400014 Acesso em: 10 ago. 2021.

POISSY, J. et al. Risk factors for candidemia: a prospective matched case-control study. **Critical Care**, v.24, 2020. Disponível em: <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-020-2766-1> Acesso em: 10 ago. 2021.

PRAMOD, K.; ANSARI, S. H.; ALI, J. Eugenol: a natural compound with versatile pharmacological actions. **Natural Product Communication**, v.5, n.12, p.1999-2006, Dec., 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21299140/> Acesso em: 11 ago. 2021.

RABELO, M. **Avaliação do efeito antiedematogênico e antinociceptivo do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OEOG) Labiatae**. 2002. 116f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza. Disponível em: <https://siduece.uece.br/siduece/trabalhoAcademicoPublico.jsf?id=24771> Acesso em: 10 ago. 2021.

RANDON, N.; FATAHZADEH, M. Oral Rinses: Mouth Rinses and Mouthwashes. **Consumer Guide to Dentistry**, 2015. Disponível em: <http://www.yourdentistryguide.com/oral-rinse/> Acesso: 8 ago. 2021.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v.39, n.5, p.603-613, 2001. Disponível em: [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Plants as source of drugs.pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Plants%20as%20source%20of%20drugs.pdf) Acesso em: 10 ago. 2021.

ROSA, C.; CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciencia & Saúde Coletiva**, v.16, n.1, p.311-318, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/6Nnd89cFpvstscx8RkJrMRN/?lang=pt> Acesso em: 10 ago. 2021.

ROSATO, A. et al. In vitro synergic efficacy of the combination of nystatin with the essential oils of *Origanum vulgare* and *Pelargonium graveolens* against some *Candida* species. **Phytomedicine**. v.16, p.972-975, 2009. Disponível em:

<file:///C:/Users/Usuario/Downloads/In vitro synergic efficacy of the combination of N.pdf> Acesso em: 15 ago. 2021.

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. **Revista da Associação Brasileira de Odontologia**, São Paulo, v.6, n.3, p.164-170, 1998. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-229918> Acesso em: 10 ago. 2021.

SALERNO, C. et al. *Candida*: associated denture stomatitis. **Oral Medicine and Pathology**, v.16, n.2, p.139-143, 2011. Disponível em: http://www.medicinaoral.com/pubmed/medoralv16_i2_pe139.pdf aCESSO EM: 20 AGO. 2021.

SANTURIO, J. M. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de Salmonella de origem avícola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p.803-808, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/yQx5FHxgDtw5NKhRjCLfBqc/abstract/?lang=pt> Acesso em: 20 fev. 2021.

SARTORATTO, A. et al. Activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.35, n.4, p.275-280, 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjm/a/jCnKGdthXfczSBdb45WL4qP/?lang=en> Acesso em: 10 set. 2021.

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. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-256285> Acesso em: 20 ago, 2021.

SIDRIM, J. J. C.; DIÓGENES, M. J. N.; PAIXÃO, G. C. Dermatofitose. In: SIDRIM, J. J. C.; MOREIRA, J. L. B. **Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p.108-131.

SILVESTRI, J. D. F. et al. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Ceres**, Viçosa, v.57, n.5, p.589-594, set./out., 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rceres/a/tqjGTK5Lj95w5HdfHMPnN9N/?format=pdf&lang=pt> Acesso em: 10 ago. 2021.

SIQUEIRA, J. da S. S. et al. Candidíase oral em pacientes internados em UTI. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v.71, n.2, p.176-179, jul./dez., 2014. Disponível em: <http://revodonto.bvsalud.org/pdf/rbo/v71n2/a13v71n2.pdf> Acesso em: 20 ago. 2021.

SOARES, D. M. et al. Candidíase Vulvovaginal: uma Revisão de Literatura com Abordagem para Candida albicans. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 25, n.1, p.28-34, 2019. Disponível em:

https://www.mastereditora.com.br/periodico/20181204_202650.pdf Acesso em: 15 ago. 2021.

SOUZA, R. R.; ABREU, M. H. N. G. Análise crítica da indicação da clorexidina no controle da placa bacteriana e doença periodontal. **Arquivos em Odontologia**, Belo Horizonte, v.39, n.3, p.163-254, 2003. Disponível em: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/ClorexidinaArquivosemOdontologia.pdf> Acesso em: 20 ago. 2021.

TAVARES, E.; MARTINEZ, H.; GISSONI, M. Soluções químicas para uso tópico bucal – classificação e advertências. **Revista Brasileira de Odontologia**, Rio de Janeiro, v.65, n.1, p.36-41, 2008. Disponível em: <https://revista.aborj.org.br/index.php/rbo/article/view/10/12> Acesso em: 10 ago. 2021.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v.15, n.1, p.115-121, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/tce/a/YmDTSJkvRQFB5f7q9YQnL4s/?format=pdf&lang=pt> Acesso em 10 ago.2021.

TORRES, C. R. G. et al. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na Odontologia. **Pós-Graduação Revista da Faculdade de Odontologia**, São José dos Campos, v.2, n.2, p.43-52, 2000. Disponível em: <https://bds.ict.unesp.br/index.php/cob/article/view/87/51> Acesso em: 20 jul. 2021.

TRAGOOLPUA, Y.; JATISATIENR, A. Anti-herpes simplex virus activities of *Eugenia caryophyllus* (Spreng.) Bullock & S. G. Harrison and essential oil, eugenol. **Phytotherapy Research**, v.21, n.12, p.1153-1158, Dec., 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17628885/> Acesso em: 12 ago. 2021.

VALENTE, R. O. H. et al. Estudo toxicológico pré-clínico (agudo) do extrato do *Syzygium aromaticum* (L) em roedores. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.19, n.2B, p.557-560, abr./jun., 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/mgjNrRYbhfR4XNH3Sb6Yc5N/?format=pdf&lang=pt> Acesso em: 14 ago. 2021.

VARONI, E. M. et al. Plant polyphenols and oral health: old phytochemicals for new fields. **Current Medicinal Chemistry**, v 19, p.1706-1720, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/221871893_Plant_Polyphenols_and_Oral_Health_Old_Phytochemicals_for_New_Fields Acesso em: 20 ago, 2021.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *copaifera* L. **Quimica Nova**, Rio de Janeiro, v.25, n.2, p.273-286, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/byypYMgDJj4CnCqkWMbx5Qj/?format=pdf&lang=pt> Acesso em: 20 jun. 2021.

VIEIRA, J. N. A. M. et al. Evaluation of the frequency of *Candida* spp. in hospitalized and non- hospitalized subjects. **Brazilian Journal of Biology**, v.78, n. 4, p.644-652, 2018. Disponível em:

[file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Evaluation of the frequency of Candida spp In hosp.pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Evaluation%20of%20the%20frequency%20of%20Candida%20spp%20In%20hosp.pdf) Acesso em: 15 jun. 2021.

VOLOCHTCHUK, O. M. et al. Variações do pH dos sabonetes e indicações para sua utilização na pele normal e na pele doente. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v.75, n.6, p.697-703, nov./dez., 2000. Disponível em: <https://www.dermatoclinica.com.br/wp-content/uploads/2021/01/pH-dos-sabonetes-para-humanos-by-Maricy.pdf> Acesso em: 25 fev. 2021.

ZORE, G. B. et al. Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle. **Phytomedicine**, v.18, n.13, p.1181-1190, 2011. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/51150398_Terpenoids_inhibit_Candida_albicans_growth_by_affecting_membrane_integrity_and_arrest_of_cell_cycle Acesso em: 20 ago. 2021.