

Universidade Brasil
Campus de Fernandópolis

TEREZA COTA DE JESUS

**USO DE INFUSÕES DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE
DE *Candida albicans* EM ESCOVAS DENTAIS**

Fernandópolis, SP
2018

TEREZA COTA DE JESUS

USO DE INFUSÕES DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE DE
Candida albicans EM ESCOVAS DENTAIS

THE USE OF MEDICINAL PLANT INFUSIONS IN THE CONTROL OF
Candida albicans IN TOOTHBRUSHES

Orientadora Profa. Dra. Danila Fernanda Rodrigues Frias

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Fernandópolis - SP

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

J56u Jesus, Tereza Cota de
Uso de infusões de plantas medicinais no controle de Candida albicans em escovas dentais / Tereza Cota de Jesus. – Fernandópolis, 2018.
46f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientadora: Profª Dra. Danila Fernanda Rodrigues Frias

1. Candidíase. 2. Desinfecção. 3. Tratamento alternativo. I. Título.

CDD 617.601

TERMO DE AUTORIZAÇÃO



Termo de Autorização

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: "USO DE INFUSÕES DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE DE *Cândida Albicans* EM ESCOVAS DENTÁRIAS"

Autor(es):

Discente: Tereza Cota de Jesus

Assinatura: Tereza Cota de Jesus.

Orientadora: Danila Fernanda Rodrigues Frias

Assinatura: Danila F. R. Frias

Data: 30/janeiro/2018

TERMO DE APROVAÇÃO

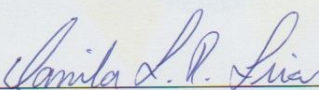


TERMO DE APROVAÇÃO

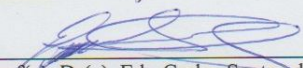
TEREZA COTA DE JESUS

USO DE INFUSÕES DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE DE *Cândida Albicans* EM ESCOVAS DENTÁRIAS

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:


Prof(a). Dr(a) Danila Fernanda Rodrigues Frias (Presidente)


Prof(a). Dr(a). Dora Inés Kozusny-Andreani


Prof(a). Dr(a). Edy Carlos Santos de Lima

Fernandópolis, 30 de janeiro de 2018.

Presidente da Banca Prof(a). Dr(a). Danila Fernanda Rodrigues Frias

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela força e coragem para enfrentar os obstáculos e seguir sempre em frente.

A minha família, pelo apoio, compreensão e amor, que me deram forças e coragem para a longa jornada.

A minha orientadora Profa. Dra. Danila Fernanda Rodrigues Frias, pela paciência e pela dedicação, que conduziu minha pesquisa e, com sua experiência, soube trazer novos conceitos para o meu aprendizado.

A meus professores e amigos do curso, pela amizade, dedicação, compreensão e troca de experiências, especialmente a Siene de Faria Rodrigues.

A Profa. Dra. Dora Inés Kozusny-Andreani pelas críticas e sugestões.

A Universidade Brasil e ao coordenador do curso de pós-graduação em ciências ambientais, pela oportunidade.

A Universidade Federal de Uberlândia que tornou possível a realização desse sonho.

Aos meus colegas de trabalho, que me apoiaram e me ajudaram nesta caminhada.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização e conclusão deste estudo e que, por algum momento, acreditaram que tudo seria possível.

A todos, muito obrigada!

USO DE INFUSÕES DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE DE *Candida albicans* EM ESCOVAS DENTAIS

RESUMO

As escovas dentais possuem carga elevada de microrganismos e se contaminam, principalmente a partir do contato com a cavidade bucal. O objetivo neste trabalho foi avaliar a atividade antifúngica de infusões de plantas medicinais para o controle de *Candida albicans* em escovas dentais. Para o preparo das infusões utilizou-se 100 mL de água destilada para cada 1g de folhas de material desidratado, deixado em infusão por 5 minutos e em seguida coado em papel filtro estéril. As infusões foram empregadas em concentrações de 0,00%, 0,40%, 0,80%, 1,70%, 3,20%, 6,25%, 12,50%, 25,00%, 50,00% e 100,00%, para avaliação da concentração fungicida mínima. Também foi utilizado o antisséptico Clorexidina como controle. Foram empregadas 188 escovas dentais, sem uso prévio, consideradas livres de *C. albicans*, destas, quatro foram utilizadas como controle negativo. O restante foi mergulhado por 15 minutos em solução fúngica contendo $1,2 \times 10^6$ UFC mL⁻¹. Quatro escovas foram selecionadas de forma casualizada para avaliação da prevalência de *C. albicans*. As 180 escovas restantes foram submergidas nos diferentes tratamentos, por 15, 30, 60, 120, 240, 480 minutos. Em seguida as mesmas foram colocadas em solução de NaCl (5%) e agitadas, 0,1mL da solução obtida foi utilizada para inoculação de placas de ágar Sabouraud e incubadas a 37°C por 24 horas. Observou-se que todos os tratamentos foram eficazes após 480 minutos de contato com as escovas, porém, as infusões de hortelã e pitanga, demonstraram a mesma eficácia da clorexidina no tempo de 30 minutos. Concluiu-se que as infusões testadas demonstraram eficácia na desinfecção de escovas dentais contaminadas com *Candida albicans* o que nos permite afirmar que as plantas medicinais constituem uma alternativa para desinfecção antifúngica bastante viável, desde que seja utilizada na concentração e por tempo adequado.

Palavras-chave: Candidíase, desinfecção, tratamento alternativo

THE USE OF MEDICINAL PLANT INFUSIONS IN THE CONTROL OF *Candida albicans* IN TOOTHBRUSHES

ABSTRACT

The toothbrushes have high microorganisms load that contaminate mostly when in contact with the oral cavity. The aim of this study is to evaluate the antifungal activity of medicinal plant infusions in order to control the *Candida albicans* in toothbrushes. In order to prepare the infusions it was used 100ml of distilled water to each 1g of leaves of dehydrated material, left in infusion for 5 minutes and then filtered in sterile fiber paper. The infusions were applied in concentrations of 0,00%, 0,40%, 0,80%, 1,70%, 3,20%, 6,25%, 12,50%, 25,00%, 50,00% and 100,00%, so that it was possible the evaluation of the minimal fungicide concentration. During the study 188 brand new toothbrushes considered free of *C. Albicans* were used and four of them were used as negative control. The toothbrushes left were plunged for 15 minutes in fungal solution that contained $1,2 \times 10^6$ UFC mL⁻¹. Four toothbrushes were randomly selected to be evaluated the prevalence of *C. Albicans*. The 180 toothbrushes left were submerged in different treatments for 15, 30, 60, 120, 240, 480 minutes. The chlorhexidine antiseptic was also used as control. Then the same toothbrushes were put in solution of NaCl (5%) and shaken; 0,1mL of the solution obtained was used to the inoculation of Sabouraud agar plaque and incubated at 37°C for 24 hours. It was observed that the treatments were efficient after 480 minutes of contact with the toothbrushes; despite the mint and the red Brazilian berry presented the same efficiency of the chlorhexidine in 30 minutes. It was concluded that the tested infusions presented efficiency in the disinfection of contaminated toothbrushes with *Candida albicans* and such point allows us to declare that the medicinal plants constitute a quite viable alternative to the antifungal disinfection, as long as applied in a concentration and period suitable to achieve the expected result.

Keywords: Candidiasis, disinfection, alternative treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Escovas imersas em diferentes infusões	31
--------------------------------------------------------	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) das infusões com relação a levedura <i>Candida albicans</i> ATCC 25923.....	33
Tabela 2: Porcentagem da inibição de <i>Candida albicans</i> ATCC 25923, após imersão das escovas dentárias nas infusões, por diferentes tempos	34
Tabela 3: Comparação das médias de inibição de <i>Candida albicans</i> ATCC 25923, após imersão das escovas dentárias nas infusões, por diferentes tempos.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AD	Água Destilada
ATCC	American Type Culture Collection
CFM	Concentração Fungicida mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical Laboratory Standard Institute
HIV	Human Immunodeficiency Virus
mL	Mililitros
NaCl	Cloreto de Sódio
RPM	Rotação por minuto
UFC	Unidades formadoras de colônias

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	13
1.1.	Relevância do tema e estado atual da arte.....	13
1.2.	Fundamentação teórica.....	14
1.2.1.	Os fungos como causadores de doenças.....	14
1.2.2	<i>Cândida albicans</i> e a candidíase.....	15
1.2.3	As escovas dentais, sua limpeza e desinfecção.....	17
1.2.4	Plantas medicinais.....	20
1.2.4.1	Plantas medicinais utilizadas no presente estudo.....	22
1.3.	Objetivos.....	27
1.3.1	Objetivo geral.....	27
1.3.2	Objetivos específicos.....	27
2.	MATERIAL E MÉTODO.....	28
2.1	Plantas medicinais e preparo das infusões.....	28
2.2	Linhagem e preparação do inóculo.....	28
2.3	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM).....	29
2.4	Determinação da concentração fungicida mínima (CFM).....	29
2.5	Inoculação das escovas dentais.....	30
2.6	Descontaminação das escovas dentárias.....	30
2.7	Análise estatística.....	31
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.	CONCLUSÕES.....	37
	REFERÊNCIAS.....	38

1. INTRODUÇÃO

1.1. Relevância do tema e estado atual da arte

Candida albicans é uma levedura comumente encontrada na microbiota natural da pele, do trato gastrointestinal e geniturinário. Como colonizante, este microrganismo não causa infecção, porém caso ocorra desequilíbrio nos mecanismos de defesa ou fatores externos do hospedeiro, a mesma causará candidíase (PEIXOTO et al., 2014).

A manifestação da candidíase pode ocorrer em mucosas e sistemicamente. Apesar dos tratamentos existentes, a mortalidade por candidíase é considerada elevada, chegando entre 15 a 25% em adultos e 10 a 15% em crianças (GONÇALO & MIALHE, 2009).

Dentre as manifestações da candidíase, a bucal é muito comum, pois o microrganismo se aloja nas próteses dentárias mal higienizadas, em feridas de mucosas e nos dentes, podendo causar a patologia (CARDOSO, 2013).

A escova dental é um instrumento utilizado para a limpeza dos dentes e tem papel importante na remoção de biofilme dentário, além de auxiliar na remoção de restos de alimentos, contribuindo assim para a manutenção da microbiota bucal. Porém, as escovas dentais mantêm microrganismos viáveis em suas cerdas removidos durante a escovação, podendo constituir uma via indireta de transmissão de microrganismos (ARAUJO et al., 2003).

Alguns métodos de escovação são amplamente descritos, porém a desinfecção das escovas após seu uso é pouco difundida, podendo o cuidado inadequado resultar no aumento dos processos infecciosos em dentes e gengivas (COSTA; CARVALHO; CARVALHO, 2017).

A recomendação é que depois do uso a escova seja lavada, seca e mantida em ambiente ventilado. Na lavagem, recomenda-se a utilização de desinfetantes, o que aumenta em uma etapa o procedimento de higienização bucal, contribuindo para a não adoção desta prática (CAMARGO et al., 2013). Dentre as substâncias utilizadas para a realização da desinfecção, indica-se a clorexidina, hipoclorito de sódio e o triclosan (ARAUJO et al., 2006).

Alguns estudos tem verificado o potencial antifúngico de plantas medicinais, principalmente para fins terapêuticos, porém novos métodos para a desinfecção de

escovas dentais, tendo como principal agente plantas medicinais, também estão sendo testados, já que as mesmas são de fácil acesso e eficazes no processo de limpeza e desinfecção (RODRIGUES, 2009; MARTINS; HENRIQUES; SILVA, 2015; STOPIGLIA; GALARÇA, 2015). Com base no exposto no presente trabalho, objetivou-se avaliar a atividade antifúngica de infusões de plantas medicinais para o controle de *Candida albicans* em escovas dentais.

1.2. Fundamentação teórica

1.2.1. Os fungos como causadores de doenças

O Reino *Fungi* compreende um conjunto de organismos eucarióticos, heterotróficos e aeróbicos que acumulam glicogênio como material de reserva. Eles possuem parede celular rígida e quitinosa, retículo endoplasmático, mitocôndrias, além de vacúolos, microtúbulos e ribossomos. São seres importantes na decomposição da matéria orgânica e apresentam grande capacidade de colonização e exploração de substratos orgânicos vivos. Além disso, são divididos em três grandes grupos: os geofílicos e os zoofílicos (habitat natural o solo) e os antropofílicos (adaptados ao ser humano) (CARDOSO, 2013).

Os fungos são conhecidos principalmente pela capacidade de decompor matéria orgânica, e pouco lembrados como patógenos primários, porém, são capazes de iniciar infecção em um hospedeiro aparentemente imunocomprometido, pois conseguem evitar ou subverter os mecanismos de defesa do hospedeiro, e se multiplicar dentro do nicho microambiental. Já indivíduos saudáveis apresentam alta resistência à infecção fúngica, apesar de serem constantemente expostos às formas infecciosas de diversos fungos presentes como parte da microbiota endógena ou do ambiente (exógenos) (BARBOSA, 2005).

Os patógenos fúngicos oportunistas, como *Candida*, *Cryptococcus spp.* e *Aspergillus spp.*, somente causam infecção quando ocorrem quebras nas barreias protetoras da pele e membranas mucosas ou quando há falhas no sistema imune do hospedeiro. Entretanto, mesmo nas infecções oportunistas, há fatores associados ao organismo, e não ao hospedeiro, que contribuem para a capacidade do fungo causar doença (VARGAS et al., 2010).

As infecções fúngicas não costumam evoluir para quadros mais sérios, entretanto, quando se trata de indivíduos com a imunidade comprometida, como portadores do vírus HIV, diabéticos, transplantados, etc., podem ser devastadoras e, inclusive, provocar a morte em curto espaço de tempo (BARBOSA, 2005; VARGAS et al., 2010).

Muitos fungos vivem, de forma harmoniosa no corpo humano, principalmente na pele e mucosas, porém situações que propiciam sua superpopulação podem provocar problemas, como por exemplo a candidíase e a pitíriase versicolor (pano branco), que são micoses resultantes da proliferação demasiada destes organismos nas mucosas e pele (VARGAS et al., 2010; PEIXOTO et al., 2014).

Em alguns casos, os mesmos agentes das infecções cutâneas ou mucocutâneas podem colonizar regiões diferenciadas, como o aparelho respiratório, sistema nervoso, genital e gastrointestinal (AFONSO, 2008).

As leveduras do gênero *Cândida* fazem parte da microbiota da superfície da pele, mucosas bucal e vaginal e trato gastrointestinal e podem não causar danos ao organismo. Infecções só se manifestam se existir alterações no mecanismo de imunidade congênitas, adquiridos ou mediados por imunossupressores, assim como a presença de doenças associadas (CARDOSO, 2013).

1.2.2 *Cândida albicans* e a candidíase

As espécies de *Cândida* spp. mais frequentes responsáveis por infecções são: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. paropsiloses*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. rugosa* e *C. stellatoidea*. As infecções causadas por estas espécies podem ir desde a colonização de mucosas, pele e unhas, até quadros sistêmicos, com a lesão de vários órgãos (CARDOSO, 2013).

Estes fungos residem como comensais, fazendo parte da microbiota normal dos indivíduos saudáveis, porém quando o sistema imune do hospedeiro encontra-se comprometido, elas tendem a desenvolver manifestações agressivas, tornando-se patogênicas (MONGE et.al., 2006).

Esta levedura é muito frequente na mucosa oral de indivíduos saudáveis com taxa de prevalência variando entre 20 a 70%, e quando há alterações no mecanismo de defesa do hospedeiro, a mesma poderá causar infecção da cavidade bucal,

principalmente na primeira infância, senescência e em pacientes imunocomprometidos (ROSSI et. al., 2011).

A presença de dispositivos orais como próteses e aparelhos ortodônticos podem facilitar a instalação de um quadro infeccioso por *Cândida*, pois alteram o ambiente oral, causando modificações nas características físicas e biológicas da saliva e de outras estruturas orais (CAMPBELL, 2003).

A estomatite protética tem sido considerada a lesão bucal mais frequentemente observada em usuários de próteses removíveis, com prevalência de 60 a 72% e está associada a ocorrência de trauma crônico de baixa intensidade resultante de uma prótese mal adaptada e, principalmente, da falta de higiene adequada e a não remoção da prótese para dormir (WEBB; THOMAS; WHITTLE, 2005). Em alguns pacientes também é comum o surgimento de estomatite protética associada à presença de candidíase eritematosa (BATISTA; BIRMAN; CURY, 1999).

Várias espécies de *Cândida* spp são colonizadoras da microbiota normal da pele, do trato gastrointestinal e geniturinário, sendo a mais comum a *Cândida albicans*. Como colonizantes, essas espécies não causam infecção a não ser que haja um desequilíbrio nos mecanismos de defesa ou fatores externos, como por exemplo, o uso de antimicrobianos que podem alterar a microbiota normal, diabetes, doenças autoimunes, pessoas hospitalizadas com o sistema imune comprometido, HIV, entre outras doenças que alterem o sistema imune do indivíduo, deixando exposto mais facilmente aos microrganismos (PEIXOTO et al, 2014).

A infecção por *Cândida* 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 (PEIXOTO et al, 2014).

Com relação ao mecanismo de virulência da *Candida* spp., podemos citar o polimorfismo e a formação de biofilme, que facilitam o desenvolvimento da infecção e dificultam o tratamento (BONI; FEIRIA; HÖFLING, 2017). As manifestações clínicas causadas pela *Cândida* spp são variadas, podendo gerar de uma infecção localizada de mucosas até uma doença disseminada potencialmente fatal, tal gravidade vai depender da resposta imune do paciente. As manifestações mais comuns são infecções na pele e mucosas. Infecções sistêmicas podem comprometer as vísceras, principalmente em pacientes portadores de doenças degenerativas e/ou neoplásicas (BARBEDO & SGARBI, 2010).

A candidíase apresenta formas clínicas variadas na mucosa bucal, dentre elas a candidíase eritematosa, que aparece na forma de manchas ou áreas eritematosas avermelhadas no palato e no dorso da língua; a candidíase pseudomembranosa (vulgarmente conhecida como “sapinho”), mais comum em crianças e caracterizada pela presença de placas esbranquiçadas ou amareladas removíveis por meio de raspagem deixando a mucosa com áreas eritematosas e hemorrágicas; a candidíase crônica hiperplásica, caracterizada por placas brancas que não podem ser removidas pela raspagem; e a candidíase mucocutânea, cuja forma localizada caracteriza-se pela candidíase persistente e prolongada da mucosa bucal, podendo atingir em seguida unhas, pele e mucosa vaginal. (BARBEDO & SGARBI, 2010).

Os medicamentos de escolha para o tratamento das infecções por *Cândida albicans* são os antifúngicos como a Nistatina sob a forma de suspensão ou tabletes, várias vezes ao dia, por cerca de 14 dias. Este fármaco deve ser aplicado sobre a lesão. Em crianças o uso deve ser prescrito por um período menor. Outro fármaco muito utilizado é o Clotrimazol sob diversas formas, com uso por cerca de 7 dias (SOARES et al., 2010).

Quando a terapia tópica não produz resultado, indica-se a terapia sistêmica com Fluconazol ou Cetoconazol. A Anfotericina B pode ser necessária em infecções sistêmicas mais graves, via endovenosa, porém, a mesma só pode ser ministrada em ambiente hospitalar, devido a sua toxicidade (SOARES et al., 2010).

Combinações de agentes antifúngicos têm sido utilizadas com bastante frequência para o tratamento de micoses, pois estas combinações agem em vários sítios do fungo, permitindo sua inibição. (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009). Contudo, o uso excessivo destes fármacos propicia o surgimento de leveduras resistentes, havendo a necessidade de encontrar novos meios de controle para estes microrganismos, e dentre as possibilidades, surge o tratamento alternativo com a utilização de plantas medicinais (ANDRADE et al., 2012).

1.2.3 As escovas dentais, sua limpeza e desinfecção

A humanidade tem desenvolvido, ao longo dos anos, práticas e cuidados que envolvem o corpo e a saúde, e uma dessas práticas cotidianas é a higienização bucal feita com o auxílio da escova dental. A higiene bucal é realizada para prevenção das doenças bucais, pois as escovas dentais realizam a remoção do biofilme, controlando

assim as principais patologias bucais placa-dependentes (cárie e doença periodontal) (BENEDUCE et al., 2010).

Os microrganismos só sobrevivem na região bucal quando conseguem se aderir as superfícies, como dentes, próteses, materiais restauradores e implantes, formando o biofilme. É o biofilme que possui características fenotípicas que tornam os microrganismos resistentes aos agentes antimicrobianos e às defesas do hospedeiro (REZENDE et al., 2015).

A escova dental é um instrumento fundamental para a limpeza bucal e universalmente aceita, porém durante a escovação são contaminadas e mantêm microrganismos viáveis em suas cerdas, mesmo após prolongada exposição ambiental, podendo constituir uma via indireta de transmissão de microrganismos periodontopatogênicos (BENEDUCE et al., 2010).

As escovas dentais carregam uma carga de microrganismos elevada, pois se contaminam a partir do contato com a cavidade bucal, com o ambiente, com as mãos do seu manipulador, e com recipientes de armazenamento não higienizados ou fechados. Outro fator que contribui para a contaminação das escovas é o uso prolongado da mesma, não havendo troca regular por outra. A instalação de microrganismos é inevitável e após uma única sessão de escovação já é possível encontrar diversos microrganismos, principalmente da espécie *Cândida albicans*, (QUEIROZ et al., 2013).

O movimento da escova dental durante a escovação dos dentes pode gerar a ocorrência de traumatismo na gengiva, instituindo uma porta de entrada para microrganismos (ANKOLA; HEBBAL; ESHWAR, 2009). Apesar de ser uma informação pouco difundida, as escovas dentais devem sofrer desinfecção regularmente e serem acondicionadas em local apropriado, pois o cuidado inadequado pode resultar no aumento dos processos infecciosos em dentes e gengivas, devido a ocorrência destes traumatismos associada a presença de microrganismos (COSTA; CARVALHO; CARVALHO, 2017).

A orientação de profissionais ensinando e motivando seus pacientes quanto à correta higienização e armazenamento de suas escovas é de grande relevância, porém tem sido observado a preocupação do mercado odontológico em desenvolver novos materiais e técnicas e não é dada importância aos cuidados básicos como o acondicionamento, a troca e a desinfecção das escovas dentais (NELSON FILHO, 2009; ANKOLA; HEBBAL; ESHWAR, 2009).

Um cuidado básico a ser realizado no acondicionamento da escova é a remoção do excesso de água e armazenamento em ambiente seco, sempre lavando e higienizando-as todos os dias, e nunca secá-las em toalha de banho ou rosto e nem com papel higiênico. A maioria das pessoas guardam suas escovas em recipientes sem tampa e dentro do armário do banheiro, onde dificilmente conseguem se secar (ZÃO; SILVA; ALVES, 2011).

Outro fator importante que deve ser considerado é evitar o armazenamento da escova em conjunto com outras escovas de pessoas que vivem na mesma casa, pois esta prática aumenta os fatores de risco para a contaminação, assim como o compartilhamento de escovas que também aumentam este risco (ZÃO; SILVA; ALVES, 2011).

A recomendação para armazenamento da escova dental após o uso é que a mesma seja lavada, seca e mantida em ambiente ventilado, e mesmo assim, alguns grupos bacterianos, como *Streptococcus mutans* conseguem se manter viáveis por até oito horas após a utilização da escova (SARAVIA et al., 2008). Por isso, a reinoculação de microrganismos pode acontecer na próxima escovação, isso significa que deixá-las secar não é suficiente para eliminar os microrganismos (CHIBINSKI et al., 2011).

A desinfecção da escova dental torna-se então fundamental para eliminação de microrganismos. Entretanto, esta descontaminação gera a necessidade de uma etapa a mais durante o procedimento de higienização bucal, o que pode ser um fator que contribua para a não adoção desta prática (CAMARGO et al., 2013).

Segundo Nogaroto e Penna (2006. p. 87):

Desinfecção é a eliminação ou remoção de grande parte dos microrganismos na forma vegetativa, independentemente de serem patogênicos, presentes em artigos e superfícies inanimadas, e eventualmente ocorre remoção de organismos esporulados.

Uma das formas de realizar o controle de microrganismos, é a realização da desinfecção dos ambientes e objetos. Esta desinfecção pode ser feita por meio de fármacos antimicrobianos e a utilização racional destes produtos pode ser, em curto prazo, positivos, no entanto em longo prazo, podem ser negativos como resultado do surgimento de microrganismos resistentes às substâncias empregadas. Todavia, somente os fármacos não serão capazes de resolver a crescente problemática das

infecções, por isso há uma busca constante por métodos alternativos de controle de microrganismos (VARGAS et al., 2010).

As propriedades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais de plantas são comprovadas cientificamente, sendo que tais propriedades têm impulsionado pesquisadores a estudarem atividades biológicas dos vegetais, tendo em vista o uso popular das mesmas. Pesquisas nesta área ganharam um grande impulso em virtude do aumento de microrganismos resistentes à maioria dos antimicrobianos conhecidos (MACIEL; PINTO; VEIGA JUNIOR, 2002).

O uso das plantas medicinais está ampliando cada vez mais os recursos tecnológicos no setor de desinfetantes e antissépticos, contornando possíveis implicações negativas que alguns produtos químicos possuem, dentre elas efeitos sobre o usuário, hospedeiro, ambiente, resistência de agentes causais, além da redução de custos das práticas de higiene (AVANCINI; WIEST; MUNDSTOCK, 2000).

1.2.4 Plantas medicinais

As plantas medicinais para fins terapêuticos já são utilizadas ao longo dos tempos desde as formas mais simples de tratamento local até as formas mais sofisticadas de fabricação industrial de medicamentos. O uso varia desde doenças gastrointestinais, respiratórias, geniturinárias, dermatológicas, traumas, feridas, dores musculares, dentre outras. Acredita-se que esta cultura foi passada de avós para os pais e de pais para os filhos, seguindo as gerações (BARBOSA, 2005; GIRARDI & HANAZAKI, 2010).

O uso das plantas é comum no campo da medicina para a produção de fitoterápicos e de uso popular, por meio do conhecimento empírico, na utilização em forma de chás, sumos e extratos (FOGLIO et al., 2006). Estas plantas têm sido objeto de muitos estudos na tentativa de descobrir drogas alternativas, pois já foi comprovado que são fontes de compostos potencialmente bioativos que podem atuar na manutenção e preservação da saúde humana (BONI; FEIRIA; HÖFLING, 2017).

Muitos extratos de plantas medicinais já foram utilizados em território nacional, desde os primeiros séculos de colonização, para o tratamento de algumas doenças na pele ou dores nas articulações. Em sua maioria, os medicamentos utilizados eram fitoterápicos, baseados em crenças populares e que aos poucos foram

substituídas pelos fármacos químicos. A maioria dessas plantas eram provenientes da Amazônia e muito utilizadas pelos índios locais em seus rituais e em curas de algumas enfermidades (BRUNING; MOSEGUI; VIANNA, 2012).

Com o passar do tempo, muitas espécies vegetais passaram a ser utilizadas por possuir diversas características medicinais. Caule, flor, folha, fruto, raiz e cascas são partes utilizadas que apresentam propriedades medicinais, e dentre aquelas propriedades atribuídas pela medicina popular citam-se as adstringentes, antidiarreicas, anti-inflamatórias, depurativas, diuréticas, febrífugas e antimicrobianas (COELHO et al., 2003).

As formas mais empregadas para obtenção das propriedades medicinais de plantas são os chás obtidos por infusão, decocção ou maceração, geralmente incorporados às outras formas denominadas compressa, cataplasma, xarope, loção, emplastro, elixir, tinturas entre outros (MARTINS et al., 2003). Também são utilizadas em forma de óleos essenciais e extratos, que já foram descritas por possuir papel de proteção contra bactérias, vírus e fungos, embora as substâncias presentes nos mesmos possam apresentar variações de acordo com a forma de extração, clima, composição do solo, idade e estágio do ciclo vegetativo e formas de manipulação (ANDRADE et al., 2010).

O uso das plantas medicinais é feito por via oral ou por via tópica, sendo que este último está mais ligado às dores musculares, dores nas articulações, feridas e traumas mais graves (COELHO et al., 2003).

Geralmente as plantas medicinais utilizadas corriqueiramente são cultivadas, muitas vezes, nos quintais das casas. Além disso, os chás, emplastro e outras formas de utilização são feitas em cozinha doméstica e utilizadas sem recomendações médicas sobre a dose e as formas de utilização, o que pode causar problemas graves, como casos de intoxicação. (MARTINS et al., 2003). Por isso, o estudo da utilização destas plantas deve ser realizado, pois além de evitar acidentes o uso de folhas e cascas destas espécies vegetais pode constituir uma alternativa sustentável, viável e acessível para tratamento e eliminação dos microrganismos (CARVALHO; CRUZ; WIESST, 2008).

A utilização de plantas no tratamento de afecções bucais já foi relatada. Dentre as plantas mais citadas utilizadas sob a forma de chá destacaram-se a aroeira, barbatimão, quixaba, romã, caju roxo, tanchagem e juá, todas devido as suas

propriedades anti-inflamatórias, exceto o juá que atua como clareador dental e o barbatimão por exibir adicionalmente ação cicatrizante (SOUZA et al., 2016).

Outros estudos também demonstraram a efetividade do uso da bananeira (*Musa sapienten* L.), da casca do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) e das folhas da mangueira (*Mangifera indica* L.) sobre aftas e úlceras bucais. Além disso, no combate a gengivite mostrou-se eficaz o pó da madeira do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam) (PALOMBO, 2011; BETTEGA et al., 2011; CATÃO et al., 2012; EVANGELISTA et al., 2013; LINS et al., 2013; HOTWANI; BALIGA; SHARMA, 2014).

Os extratos de camomila (*Matricaria chamomilla* L.) e mirra (*Commiphora myrrha*) possuem efeito sobre microrganismos formadores do biofilme dental semelhante ao antisséptico químico clorexidina. A sucupira (*Pterodon emarginatus*), a romã (*Punica granatum*) e o barbatimão (*Stryphnodendron*) também mostraram-se eficazes no tratamento de doenças bucais, como aftas, candidíase, queilite angular, gengivite e herpes simples (PALOMBO, 2011; BETTEGA et al., 2011; CATÃO et al., 2012; EVANGELISTA et al., 2013; LINS et al., 2013; HOTWANI; BALIGA; SHARMA, 2014).

1.2.4.1 Plantas medicinais utilizadas no presente estudo

1.2.4.1.1 *Camellia sinensis* (L.) Kuntze

Camellia sinensis é um arbusto ou árvore de pequeno porte, de origem asiática, também conhecido como chá-da-índia, chá-verde, chá-preto ou chá-branco (DUARTE & MENARIM, 2006). Apresenta folhas simples, inteiras, com margem serrada, alternas e textura coriácea (LORENZI & MATOS, 2002).

O chá de *Camellia sinensis* é rico em compostos fenólicos antioxidantes, por isso é responsável por efeitos benéficos à saúde humana (PEREIRA et al., 2009). Alguns estudos demonstraram seu efeito antioxidante, anti-inflamatório, hepatoprotetor, antimicrobiano, hipoglicemiante, antimutagênico. (BARBOSA-FILHO et al., 2005; FIORINI et al., 2005; KALRA; PRASAD; SHUKLA, 2005; NAG-CHAUDHURI et al., 2005; SANTHOSH; SWARNAM; RAMADASAN, 2005; TURCHETTI et al., 2005; CABRERA; ARTACHO; GIMENEZ, 2006; DUARTE & MENARIM, 2006).

Esta planta é cultivada em diversos países e amplamente consumida em todo o mundo. Para se produzir o chá verde, folhas recentemente colhidas são cozidas no vapor para prevenir a fermentação (estabilizadas). Na obtenção do chá preto, as folhas são secas, trituradas, iniciando-se a oxidação por meio da fermentação rápida ou prolongada. Já o chá branco é produzido com folhas novas e brotos, ou seja, a parte mais nobre da planta, que são colhidos antes da abertura das flores e que não sofreram efeitos de oxidação (KUHN & WINSTON, 2000; CRESPIY & WILLIAMSON, 2004; MATSUBARA & RODRIGUEZ-AMAYA, 2006).

1.2.4.1.2 *Matricaria chamomilla* L.

Conhecida popularmente como camomila, esta planta é uma espécie originária da Europa, cultivada em todo o mundo inclusive na região Centro Sul do Brasil e apresenta como sinonímia camomila-da-alemanha, mançanilha e matricária (MATOS, 1998; LORENZI & MATOS, 2002). Esta planta possui cerca de 40 cm de altura com folhas divididas e inflorescência em capítulos terminais (MARTINS et al., 2003).

É uma das plantas mais utilizadas com fins terapêuticos na medicina popular, desde a antiguidade, pois possui várias propriedades bioativas, dentre elas efeito anti-inflamatório e espasmolítico gástrico. Além disso, também já foi descrita sua ação calmante, assim como suas atividades analgésica, carminativa, cicatrizante e emenagoga (SCHULZ; HÄNSEL; TYLER, 2002; HARTMANN & ONOFRE, 2010). Lins et al. (2013) relataram a eficácia de bochechos a base de camomila para o estabelecimento e manutenção de um tecido gengival sadio, em consequência de sua ação antimicrobiana e anti-inflamatória.

A ação farmacológica relatada pela sabedoria popular inclui seu uso para o tratamento da febre, diarreia, cólica menstrual, tumores intestinais, sedativo, distúrbios inflamatórios e como princípio ativo utilizado em pomadas para dermatite atópica (NOURI & ABAD, 2012).

A planta possui uma série de compostos, dentre eles flavonoides, terpenos, polissacarídeos, entre outros. O composto α -bisabolol é o responsável pelas atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias, antinociceptivas e antimaláricas (BAUMANN, 2007; ROCHA et al., 2011; MOTA et al., 2012; FORRER et al., 2013).

1.2.4.1.3 *Pimpinella anisum* L

A erva-doce é uma planta de ampla distribuição geográfica, utilizada na alimentação como condimento e para fins medicinais (FIGUEIREDO, 2014). Também conhecida como anis, funcho, anis-da-Europa, é originária de países da Ásia, Egito e Grécia, e cultivada na Turquia, Rússia, América Latina e Brasil (TORRES, 2004).

É uma planta anual, herbácea, ereta, aromática, apresentando flores brancas e dispostas em umbelas, podendo atingir até 1 metro de altura (TORRES, 2004; AKHTAR et al., 2008). Na fitoterapia, são usados os frutos, raízes e folhas frescas da planta (AKHTAR et. al, 2008).

Para fins medicinais em seres humanos, a planta é utilizada como antiespasmódica, carminativa, broncodilatadora, antioxidante, favorece a secreção láctea e possui notável ação antibacteriana (LORENZI & MATOS, 2002; GÜLÇİN; OKTAY; KÜFREVIÖGLU, 2003, FIGUEIREDO, 2014).

Sua ação no sistema digestivo está relacionada as dores de estômago, desconforto intestinal e indigestão. Também é utilizada como depurativo, laxante, analgésico, antidiarreico, e para minimizar a inflamação uterina. Sua ação anticancerígena relacionada ao câncer de próstata também é efetiva (DANTAS, 2007; KADAN; RAYAN; RAYAN, 2013).

1.2.4.1.4 *Cinnamomum zeylanicum* L

A canela é uma árvore originária da Índia, pertencente à família das Lauráceas. Possui outros nomes populares, como: caneleira, caneleira-da-índia, caneleira-de-ceilão, cinamomo e pau-canela. A casca dos ramos é comercializada em rama (pau), raspas e pó. Além disso é uma planta utilizada na culinária e na fabricação de bebidas, medicamentos, perfumes e sabonetes (JARDIM DE FLORES, 2018).

Alguns pesquisadores já demonstraram o poder fungicida do óleo da casca e das folhas da canela por possuir elevados níveis de eugenol, considerado um potente componente antifúngico com ação principal de inibição frente a *C. albicans*. Estes autores também destacaram a necessidade de novas pesquisas a fim de testar a incorporação desses fitoterápicos rotineiramente para controle de fungos (COELHO; SOUZA; DARE, 2004; SCHMIDT et al., 2007; JANTAN et al., 2008; LIU et al., 2012).

Esta planta é muito utilizada na medicina popular por apresentar propriedades medicinais, tais como: adstringente, afrodisíaca, antisséptica, aromática, carminativa, digestiva, estimulante, anti-hipertensora, sedativa, tônica e vasodilatadora (JARDIM DE FLORES, 2018).

1.2.4.1.5 *Caryophyllus aromaticus* L

Planta popularmente conhecida como cravo da Índia, é uma espécie pertencente à família *Myrtaceae*, original da Indonésia onde era muito utilizada por seu poder antisséptico, como condimento na culinária e, principalmente, por seus poderes afrodisíacos. Possui aroma e sabor característicos, devido a presença de eugenol. Esta planta pode ser empregada como aromatizante e também como planta medicinal (MAZZAFERA, 2003; VANIN, 2014).

Em geral, é uma árvore robusta que pode atingir até 15m de altura, e no Brasil, encontra-se vários exemplares principalmente no Estado da Bahia. Os botões florais, que são colhidos manualmente, é a parte da planta que tem importância comercial e farmacológica. Os botões são colhidos, passam da cor verde para o róseo-avermelhado e depois são secos ao sol ou sob aeração forçada para posterior comercialização. Desses botões também pode ser extraído o óleo essencial (MAZZAFERA, 2003).

Os óleos essenciais e os extratos aquosos podem ser utilizados em diferentes segmentos, dentre eles, na indústria alimentícia e na farmacêutica. Estudos têm demonstrado a importância de extratos aquosos e óleos essenciais no desenvolvimento de novos medicamentos para tratamento e controle de doenças. O óleo extraído desta planta nativa da Ásia, porém adaptada na América do Sul, é rico em eugenol (70 a 98%), substância muito utilizada na área médica e odontológica como antisséptico, analgésico e agente anestésico (VANIN, 2014; VENTUROSO et al., 2010).

1.2.4.1.6 *Mentha piperita* L.

Planta aromática conhecida popularmente como menta, hortelã, hortelã-pimenta ou peppermint, pertencente à família *Lamiaceae*, tem sido considerada como uma das espécies mais exploradas para utilização como flavorizante, aditivo em alimentos e

bebidas, produtos de higiene bucal e farmacêuticos, perfumaria e confeitarias (DOMIJAN et al, 2005; SOUZA et al., 2006; SIMÕES et al, 2007).

No Brasil, o cultivo desta planta está difundido por todo o território nacional e a mesma se caracteriza por possuir haste ramosa e quadrangular, verde ou roxo-purpúrea, juntamente com os ramos (SOUZA et al., 2006).

O principal produto da menta é o óleo essencial, pois foi relatado sua atividade antibacteriana, antiviral e antifúngica, sendo esta atividade associada principalmente aos compostos mentol, mentona, acetato de metila, iso-mentona (SINGH, SHUSHNI; BELKHEIR, 2011).

A planta é utilizada para tratamento de problemas respiratórios e gastrointestinais, dentre eles auxilia na melhora da digestão e eliminação de gases, e além disso, possui ação antimicrobiana (SIMÕES et al, 2007). Outras ações também já foram relatadas, como sua propriedade analgésica, antiemética, antiespasmódica, anti-inflamatória, antiviral, descongestionante e expectorante (SCAVRONI et al., 2006)

1.2.4.1.7 *Eugenia uniflora* L

Eugenia uniflora L., conhecida como pitangueira, é uma árvore frutífera nativa do Brasil, porém seu cultivo é bem difundido em outros países da América do Sul. Possui frutos vermelhos e folhas ovais que quando jovens apresentam uma coloração bronze se tornando verde escuro com o envelhecimento, e são elas utilizadas largamente na medicina popular, na forma de infusão, isoladas ou misturadas com erva-mate, para a prevenção de inúmeras doenças (CONSOLINI; BALDINI; AMAT, 1999; MELO et al., 2007; BICAS et al., 2011).

Relatos na literatura têm destacado o estudo das diversas atividades biológicas encontradas no extrato das folhas de pitangueira, tais como ação antimicrobiana, antioxidante, hepatoprotetora, antifúngica, hipertérmica, antitumoral, inseticida, diurética, anti-inflamatória, anti-hipertensiva (CONSOLINI; BALDINI; AMAT, 1999; OGUNWANDE et al., 2005; AMORIM et al., 2009; COSTA et al., 2010; VICTORIA et al., 2012; JUNG et al., 2013; VICTORIA et al., 2013; SOBRAL-SOUZA et al., 2014).

1.3. Objetivos

1.3.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antifúngica de infusões de plantas medicinais para o controle de *Candida albicans* em escovas dentais.

1.3.2 Objetivos específicos

- Verificar a viabilidade do desenvolvimento de *Candida albicans* em escovas dentais previamente contaminadas.
- Determinar a concentração inibitória mínima e concentração fungicida mínima das infusões testadas.
- Determinar a eficácia das infusões frente a *Candida albicans* em escovas dentais em diferentes tempos de exposição.

2. MATERIAL E MÉTODO

O presente estudo foi realizado no laboratório de microbiologia da Universidade Brasil, Campus de Fernandópolis, São Paulo.

2.1 Plantas medicinais e preparo das infusões

As plantas medicinais utilizadas foram *Camellia sinensis* L., Kuntze (chá branco, chá preto, chá verde), *Matricaria chamomilla* L. (camomila), *Pimpinella anisum* L. (erva doce), *Cinnamomum zeylanicum* L. (canela), *Caryophyllus aromaticus* L. (cravo-da-índia), *Mentha piperita* L. (hortelã), *Eugenia uniflora* L. (pitanga), por serem plantas de fácil acesso da população e com preço acessível. Foram empregadas folhas desidratadas de todas as plantas exceto erva doce, da qual foram empregadas as sementes. As plantas foram adquiridas em sachês de chá prontos para utilização, de três marcas comerciais.

Dentre as três marcas comerciais adquiridas, as folhas desidratadas de cada planta foram homogeneizadas e pesadas. Para o preparo das infusões utilizou-se 100 mL de água destilada (AD) para cada 1g de folhas desidratadas ou sementes, de cada planta. A AD foi submetida ao processo de ebulição (em ebulidor de água previamente desinfetado com álcool 70%) em seguida colocada sobre a planta em recipiente de vidro graduado em mL (Becker), deixado em infusão por 5 minutos. Após este período, o material obtido foi coado em papel filtro estéril. Este procedimento foi realizado em câmara de fluxo laminar.

2.2 Linhagem e preparação do inóculo

O preparo do inóculo para os testes de susceptibilidade foi realizado de pelo método de diluição em tubos, seguindo os protocolos Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2008).

Foi utilizada a linhagem padrão de *Candida albicans* ATCC 25923 (American Type Culture Collection), reativada em meio Sabouraud Dextrose Ágar. Estas culturas de 24 horas foram novamente transferidas em meio Caldo Sabouraud Dextrose e cultivadas a 37°C por 24 horas em condições anaeróbicas. Em seguida, procedeu-se a centrifugação (4000 rpm) por cinco minutos, desprezou-se o sobrenadante e o

material precipitado foi ressuspenso em solução estéril de NaCl (0,5%) e novamente submetido a centrifugação. Este procedimento foi repetido cinco vezes com a finalidade de retirar os componentes do meio de cultura.

O material precipitado obtido, após remoção do meio de cultura, foi ressuspenso em 100mL solução estéril de NaCl (0,5%), e foram ajustadas ao tubo 0,5 da escala de Mc Farland. A partir desta solução foram realizadas diluições seriadas resultando uma concentração de $1,2 \times 10^8$ UFC mL⁻¹.

2.3 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A CIM das infusões foi determinada seguindo os protocolos do Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2008). Foram preparados previamente microtubos (eppendorf) esterilizados em autoclave, nos quais foram depositados 0,5mL da suspensão de células microbianas e após foi adicionado a infusão. Estas foram utilizadas nas concentrações 0,00%, 0,40%, 0,80%, 1,60%, 3,20%, 6,25%, 12,50%, 25,00%, 50,00% e 100,00%.

Em seguida, esta suspensão foi depositada em placas de Petri contendo Sabouraud Dextrose Ágar, em triplicata. A CIM foi considerada como a menor concentração da infusão capaz de inibir o desenvolvimento fúngico.

2.4 Determinação da concentração fungicida mínima (CFM)

A concentração fungicida mínima (CFM) foi determinada após determinação da CIM, os tubos contendo crescimentos visíveis ou não, foram agitados vigorosamente, em seguida 0,1mL da solução de cada tubo foram transferidos para placas de Petri contendo meio Sabouraud Dextrose Ágar e incubados a 37°C por 24 h . Designou-se como CFM a concentração mínima em que não ocorreu crescimento fúngico.

Uma vez determinada a CIM e a CFM foi avaliado crescimento fúngico na presença das infusões em função do tempo, determinando-se curva de sobrevivência de acordo com a metodologia descrita por Sforcin et al. (2000).

2.5 Inoculação das escovas dentais

A suspensão fúngica preparada com concentração de $1,2 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ foi empregada para contaminação das escovas.

Foram empregadas 188 escovas, sem uso prévio consideradas livres de *C. albicans*. Quatro escovas foram utilizadas como controle negativo, as mesmas submergidas em solução de NaCl (0,5%) esterilizada por 15 minutos. Para a avaliação da prevalência e controle de *Candida albicans* foram empregadas 184 escovas, estas foram contaminadas com a suspensão de $1,2 \times 10^8$ UFC mL⁻¹.

As escovas foram mergulhadas na solução fúngica por 15 minutos. Após contaminação foram colocadas em suportes individuais por uma semana, quando foram selecionadas de forma casualizada quatro escovas para avaliação da prevalência de *Candida albicans*. Para tal fim, estas escovas foram depositadas em tubos contendo 10mL de solução salina (NaCl 0,5%) e agitadas vigorosamente, a partir destas soluções foram realizadas diluições seriadas, utilizando-se 0,1mL de cada diluição para inocular placas de Petri contendo meio Sabouraud Dextrose Ágar, incubadas a 37°C por 24 horas. Após este período as colônias isoladas foram contabilizadas e identificadas, macroscopicamente, pelas características da cultura e, microscopicamente por meio de coloração usando o corante azul de algodão.

2.6 Descontaminação das escovas dentárias

As escovas restantes (180) foram empregadas para avaliação da atividade antifúngica das infusões de plantas medicinais e da clorexidina.

Dentre as escovas contaminadas com *C. albicans*, 18 foram deixadas submergidas em cada tratamento (Figura 1). Nos tempos de 15, 30, 60, 120, 240, 480 minutos, foram retiradas três escovas, em cada tempo, sendo as mesmas incubadas a 37°C por 24 horas.



Figura 1: Escovas imersas em diferentes infusões

Após o período de incubação cada escova foi submergida em 10 mL de solução de NaCl (5%) e agitada vigorosamente, 0,1mL da solução obtida foi utilizada para inoculação de placas de Sabouraud Dextrose Ágar, em triplicata, incubadas a 37°C por 24 horas para avaliar a eficácia das infusões pela verificação da presença ou não de colônias de *C. albicans*, as quais foram caracterizadas macroscopicamente pelas características da cultura e microscopicamente por meio de corante azul de algodão, em seguida foram contabilizadas sendo os resultados expressos em unidades formadoras de colônias (UFC).

2.7 Análise estatística

Após obtenção dos resultados, os mesmos foram transcritos e tabulados em planilhas eletrônicas (software *Excel*) para posterior tratamento. Foram exercidas 2 funções de análises estatísticas: descritiva e inferencial.

Para a descritiva, foi traçado o perfil da amostra estudada, contemplando as variáveis analisadas e seus desdobramentos, por meio da replicação dos dados de forma absoluta e relativa.

Agora, no âmbito inferencial, foi traçado como objetivo estatístico, a análise de hipóteses nula e alternativas para as comparações entre os períodos analisados. Vale ressaltar, que os resultados de hipóteses entre as variáveis propostas, se deram através de análise entre o valor de p (significância).

Os dados dentro de cada grupo foram analisados pelo programa SAS, por meio de análise de variância (ANOVA), utilizando a ferramenta PROC ANOVA. Quando apresentou significância estatística, foi aplicado o teste de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$), para comparação entre as médias.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados referentes a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM) de *Candida albicans* ATCC 25923 com relação as infusões testadas.

Tabela 1: Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) das infusões com relação a levedura *Candida albicans* ATCC 25923.

Tratamentos	CIM (%)	CFM (%)
Branco	100	100
Verde	50	100
Preto	100	100
Camomila	100	100
Erva doce	100	100
Canela	50	50
Cravo da Índia	25	25
Hortelã	50	50
Pitanga	25	25
Clorexidina	12,5	12,5

Fonte: Próprio autor, 2018.

Observou-se que a concentração inibitória mínima do cravo da Índia e da pitanga foi de 25%, considerada baixa, quando comparada com a maioria das infusões, que apresentaram inibição significativa apenas na concentração de 50 e 100%.

As infecções fúngicas são de difícil tratamento devido a resistência dos agentes etiológicos aos antifúngicos utilizados (ARAUJO et al., 2004). Por isso, a busca por novas substâncias provenientes de fontes naturais, dentre elas as plantas, está ganhando importância na indústria farmacêutica (DUARTE, 2006). Este interesse pelas plantas ocorre devido à grande variedade de substâncias químicas que elas agregam, e muitas destas possuem atividade antimicrobiana já demonstrada por pesquisas.

Extratos vegetais secos de *Punica granatum* Linnaeus (Romaneiro), usando álcool como solvente, foi utilizado para inibição de *Candida albicans*, com a CIM de 25%, assim como o extrato de *Psidium guajava* Linnaeus (goiabeira vermelha), que se mostrou eficaz apenas com a CIM de 100%, por meio da técnica de difusão do

extrato em discos branco de papel em Ágar Sabouraud Dextrose (BARBOSA et al., 2016).

A contaminação das escovas dentais ocorreu após a imersão das mesmas, por 15 minutos, em suspensão fúngica de *Candida albicans* com média de $1,2 \times 10^8$ UFC/mL⁻¹. Em seguida, a contaminação das mesmas foi comprovada pela técnica de cultivo em superfície em meio Ágar Sabouraud, onde as colônias isoladas foram contabilizadas e identificadas.

Após a confirmação da contaminação das escovas por *Candida albicans*, as mesmas foram imersas nas infusões, em triplicata. Foi possível observar que houve diminuição na contagem do microrganismo de acordo com o tipo de infusão utilizado e o tempo de exposição, indicando a eliminação do fungo pela maioria das infusões a partir de 60 minutos de imersão da escova a solução.

A porcentagem de evolução da incidência de fungos nas escovas dentais, em relação ao período basal da amostra, também demonstrou a diminuição do crescimento fúngico em diferentes tempos de imersão nas diferentes infusões (Tabela 2).

Tabela 2: Porcentagem da inibição de *Candida albicans* ATCC 25923, após imersão das escovas dentárias nas infusões, por diferentes tempos

Tratamentos	0 min	15 min	30min	60 min	120 min	240 min	480 min
Branco	0%	78%	93%	99%	99,9%	100%	100%
Preto	0%	36%	69%	91%	98%	99%	100%
Verde	0%	44%	85%	100%	100%	100%	100%
Camomila	0%	16%	36%	87%	98%	99%	100%
Erva doce	0%	79%	95%	98%	100%	100%	100%
Canela	0%	54%	99%	100%	100%	100%	100%
Cravo da Índia	0%	38%	99%	100%	100%	100%	100%
Hortelã	0%	71%	99%	100%	100%	100%	100%
Pitanga	0%	98%	100%	100%	100%	100%	100%
Clorexidina	0%	99%	99%	100%	100%	100%	100%

Fonte: próprio autor, 2018

Todas as infusões demonstraram eficácia para desinfecção de escovas dentais contaminadas com *Candida albicans*, após 480 minutos de imersão. Com 30 minutos, observou-se a ação semelhante entre as infusões de canela, cravo da Índia, hortelã e pitanga, quando comparada ao antisséptico químico utilizado, a clorexidina.

A utilização de plantas medicinais como método alternativo no controle de microrganismos já foi citada por vários autores. Algumas demonstraram ação

antifúngica frente à *Candida albicans*, como *Melaleuca atnerfolia* (Árvore-de-chá), *Uncaria tomentosa* (Unha de gato), *Cymbopogon citratus* (Capim-limão), *Allium sativum* (Alho) e *Ricinus communis* (Mamona) (CATALÁN et al., 2008; PAIVA et al., 2009; WRIGHT; MAREE; SIBANYONI, 2009; BAKHSHI et al., 2012; PINELLI et al., 2013; SALLES et al., 2015; BARBOSA et al., 2016).

Candida albicans, também demonstrou um caráter sensível frente a extratos metanólicos da raiz, caule e folhas de plantas do gênero *Croton*, popularmente conhecida como Zabelê (ARRAIS et al., 2014). Estudos também comprovaram que *Mikania glomerata* (conhecida popularmente como guaco), por meio do óleo essencial e extrato aquoso, possui grande atividade inibitória contra o desenvolvimento desta levedura (BARATTO et al., 2008; PEREIRA et al., 2014).

Para avaliar qual infusão teve melhor desempenho quando comparada as outras infusões e ao antisséptico químico clorexidina, foi realizada análise estatística e os resultados estão expressos na Tabela 3.

Tabela 3: Comparação das médias de inibição de *Candida albicans* ATCC 25923, após imersão das escovas dentárias nas infusões, por diferentes tempos.

Tratamentos	0 min	15 min	30min	1 hora	2 horas	4 horas	8 horas
Branco	12000000	261666 ^{Dd}	75333 ^{Ec}	11199 ^{Bb}	701 ^{Ba}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^a
Preto	12000000	763333 ^{Le}	365666 ^{Gd}	99933 ^{Dc}	17100 ^{Cb}	127.3 ^{Ba}	0.0 ^a
Verde	12000000	667666 ^{Gc}	175333 ^{Fb}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^a
Camomila	12000000	999000 ^{Jf}	757666 ^{He}	146000 ^{Ed}	18513.6 ^{Dc}	1740 ^{Cb}	0.0 ^a
Erva doce	12000000	245000 ^{Cd}	56433 ^{Dc}	15000 ^{Cb}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^a
Canela	12000000	545000 ^{Fb}	2966 ^{Ba}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^a
Cravo da Índia	12000000	743000 ^{Hd}	9346 ^{Cc}	18 ^{Ab}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^a
Hortelã	12000000	345000 ^{Eb}	679 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^a
Pitanga	12000000	23333 ^{Bb}	23 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^a
Clorexidina	12000000	1657 ^{Ac}	110 ^{Ab}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^{Aa}	0.0 ^a
Value p		0.006	0.008	0.004	0.004	0.004	

*Letras minúsculas diferenciam médias na mesma linha pelo teste de Student-Newman-Keuls (p<0,05).

*Letras maiúsculas diferenciam médias na mesma coluna pelo teste de Student-Newman-Keuls (p<0,05).

Todas as Infusões apresentaram diferenças significativas para redução do número de UFC no tempo de 15 minutos, sendo que o antisséptico químico obteve melhor desempenho, seguido pela infusão de pitanga. Já aos 30 minutos, a ação da infusão de pitanga (CFM de 25%) e hortelã (CFM 50%), não apresentou diferença estatística da ação do antisséptico químico, o que torna o uso destas substâncias naturais como forma alternativa para desinfecção de escovas dentais viável visando

o controle de *Candida albicans*. As infusões de chá verde e canela, no tempo de 1 hora, também apresentaram a mesma eficácia do antisséptico químico.

Estudo realizado por Sper et al. (2016), demonstrou a eficiência da ação antimicrobiana do extrato de alecrim por meio da redução significativa da viabilidade de biofilme polimicrobiano composto por *Candida albicans* e *S. aureus*. Já Milani et al. (2016), detectou a eficácia do extrato de alho também frente a *C. albicans*. O extrato de camomila em álcool etílico também demonstrou eficácia contra amostras *Candida albicans* em outras pesquisas, assim como o extrato alcoólico de hortelã e erva doce (MCKAY & BLUMBERG, 2006; SANTOS et al., 2016).

O extrato de chá verde também demonstrou ação sobre biofilme de *S. aureus* promovendo redução significativa em sua viabilidade. A bactéria *S. aureus* é comumente encontrada na boca, assim como a levedura estudada, por isso, o chá verde pode ser uma alternativa de desinfecção de escovas dentais não somente contra *Candida albicans*, como detectado neste trabalho, mas demonstra ter ação efetiva também para desinfecção contra *S. aureus* (FIGUEIRA et al., 2016).

4. CONCLUSÕES

Devido a elevada eficácia encontrada, principalmente com relação as infusões de pitanga e hortelã, observou-se que a utilização destas plantas medicinais pode constituir uma alternativa para desinfecção antifúngica bastante útil. Além disso, a facilidade de aquisição destes produtos pela população, o baixo custo e a facilidade de preparo da infusão também torna sua utilização totalmente viável.

Outro fator importante a salientar é a possível substituição do uso de antissépticos químicos por produtos naturais, o que reduz o impacto ambiental do descarte deste tipo de produto.

Além disso, sabe-se que a resistência das leveduras pertencentes ao gênero *Candida* frente aos antifúngicos atualmente utilizados está elevada, por isso pode-se inferir que a busca de novos compostos antifúngicos de origem vegetal seja extremamente relevante, como demonstrado nesta pesquisa, pois algumas infusões mostraram-se extremamente eficazes frente ao fungo testado.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, M. S. Atividade antioxidante e antimicrobiana do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em filés de tilápia (*Oreochromis ssp*) salgados secos durante o armazenamento congelado. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.10, n.2, p.12-17, 2008.
- AKHTAR, A. et al. In vitro antibacterial activity of *Pimpinella anisum* fruit extracts against some pathogenic bacteria. *Veterinary World*, v.1, n.9, p.272-274, 2008.
- AMORIM, A. C. L. et al. Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga). *Phytomedicine*, v.16, n.10, p.923-928, 2009.
- ANDRADE, M. A. et al. Óleo essencial de *Cymbopogon nardus*: caracterização química e antibacteriana. In: 50º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA: AGROINDÚSTRIA, QUALIDADE DE VIDA E BIOMAS BRASILEIROS, 2010, Cuiabá, MT. Anais... Cuiabá, MT, 2010.
- ANDRADE, M.A. et al. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. *Revista Ciência Agronômica*, v.43, n.2, p.399-408, 2012.
- ANKOLA, A. V.; HEBBAL, M.; ESHWAR, S. How clean is the toothbrush that cleans your tooth? *International Journal of Dental Hygiene*, v.7, n.4, p.237-240, 2009.
- ARAUJO, R. R. Et al. Perfil da candidíase bucal em clínica estomatológica. 2003. Disponível em <
http://pucmg.br/imagedb/documento/DOC_DSC_NOME_ARQUI20070530170401.pdf>. Acesso em: 10 out. 2017.
- ARAUJO, J. C. L. V. et al. Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre microrganismos potencialmente causadores de infecções oportunistas. *Revista de Patologia Tropical*, v.33, n.1, p.55-64, 2004.
- ARAUJO, M. S. et al. Descontaminação de escovas dentais: desenvolvimento e padronização de método para uso doméstico. *Jornal Brasileira de Clínica Odontológica Integrada*, v.10, n.52, p.71-79, 2006.
- ARRAIS, L. G. et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos da raiz, caule e folhas de *Croton pulegioides* Baill. (Zabelê). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.16, n.2, supl.I, p.316-322, 2014.
- AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J. M.; MUNDSTOCK, E. Atividade bacteriostática e bactericida do decocto de *Baccharis trimera* (Less.) D. C., Compositae, carqueja, como desinfetante ou anti-séptico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.52, n.3, p.230-234, 2000.
- BAKHSI, M. et al. Comparison of therapeutic effect of aqueous extract of garlic and nystatin mouthwash in denture stomatitis. *Gerodontology*, v.29, n.2, p.680-684, 2012.

- BARATTO, L. et al. Investigação das atividades alelopática e antimicrobiana de *Mikania laevigata* (Asteraceae) obtida de cultivos hidropônico e tradicional. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.18, n.4, p.577-82, 2008.
- BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. B. G. Candidíase. *Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis*, v.22, n.1, 2010.
- BARBOSA, A. J. Guia prático de plantas medicinais. São Paulo: Universo dos Livros, 2005.
- BARBOSA, C. S. et al. Atividade antifúngica preliminar dos extratos de *Punica granatum* (linnaeus) e *Psidium guajava* (linnaeus) sobre *Candida albicans*. *SaBios: Revista de Saúde e Biologia*, v.11, n.1, p.66-73, 2016.
- BARBOSA-FILHO, J. M. et al. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, n.4, p.392-413, 2005.
- BATISTA, J. M.; BIRMAN, E. G.; CURY, A. E. Suscetibilidade a antifúngicos de cepas de *Candida albicans* isoladas de pacientes com estomatite protética. *Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo*, v.13, n.4, p.343-348, 1999.
- BAUMANN, L. S. Less-known botanical cosmeceuticals. *Dermatologic Therapy*, v.20, n.5, p.330-342, 2007.
- BENEDUCE, C. et al. Germicidal activity of antimicrobials and VIOlight personal travel toothbrush sanitizer: an in vitro study. *Journal of Dentistry*, v.38, n.8, p.621-625, 2010.
- BETTEGA, P. V. C. et al. Fitoterapia: dos canteiros ao balcão da farmácia. *Archives of Oral Research*, v.7, n.1, p.89-97, 2011.
- BICAS, J. L. et al. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. *Food Research International*, v.44, n.7, p.1843-1855, 2011.
- BONI, G. C.; FEIRIA, S. N. B.; HÖFLING, J. F. Purified bioactive compounds from *Mentha* spp. oils as a source of Candidosis treatment. A brief review. *Revista Fitos*, v.11, n.1, p.95-106, 2017.
- BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu - Paraná: a visão dos profissionais de saúde. *Ciência e Saúde Coletiva*, v.17, n.10, p.2675-2685, 2012.
- CABRERA, C.; ARTACHO, R.; GIMENEZ, R. Beneficial effects of green tea - a review. *Journal of the American College of Nutrition*, v. 25, n. 2, p. 79-99, 2006.
- CAMARGO, R. A. et al. Avaliação microbiológica da efetividade de uma escova antibacteriana: um estudo in vivo. *Revista de Odontologia da Unesp*, v.42, n.1, p.54-58, 2013.

CAMPBELL, C. H. C. T. Alterações da microflora bucal em pacientes portadores de aparelho ortodôntico fixo. *Ortodontia Gaúcha*, v.7, n.2, p.98-109, 2003.

CARDOSO, T. S. *Papel do ATP na infecção de macrófagos por Candida albicans*. 2013. 54f. Dissertação de mestrado – Universidade de Coimbra, Coimbra, 2013.

CARVALHO, H. H. C.; CRUZ, F. T.; WIESST, J. M. Atividade antibacteriana em plantas com indicativo etnográfico condimentar em Porto Alegre, RS/Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.7 n.3, p.25-32, 2008.

CATALÁN, A. et al. In vitro and in vivo activity of *Melaleuca alternifolia* mixed with tissue conditioner on *Candida albicans*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, v.105, n.3, p.327-332, 2008.

CATÃO, M. H. C. V. et al. Estudos Clínicos com Plantas Mediciniais no Tratamento de Afecções Bucais: Uma Revisão de Literatura. *UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde*, v.14, n.4, p.279-285, 2012.

CHIBINSKI, A. C. R. et al. Descontaminação de escovas dentais utilizadas por crianças portadoras de necessidades especiais: análise microbiológica. *RSBO*, v.8, n.2, p.145-152, 2011.

CLSI - CLINICAL LABORATORY STANDARD INSTITUTE, Document M38-A2. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi, Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI), Wayne, Pa, USA, 2nd edition, 2008, 50p.

COELHO, A. M. S. P. et al. Atividade antimicrobiana de *Bixa orellana* L. (Urucum). *Revista Lecta*, v.21, p.47-54, 2003.

COELHO, C.; SOUZA, Y.; DARE, A. Dentadure-related oral mucosal lesions in a Brazilian school of dentistry. *Journal oral Rehabilitation*, v. 31, n.2, p.135-139, 2004.

CONSOLINI, A. E.; BALDINI, O. A.; AMAT, A. G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 66, p. 33-39, 1999.

COSTA, D. P. et al. Influence of fruit biotypes on the chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *eugenia uniflora* leaves. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.21, n.5, p.851-858, 2010.

COSTA, J. O.; CARVALHO, F. S.; CARVALHO, C. A. P. Desinfecção e acondicionamento de escovas dentais: conhecimento e atitudes de acadêmicos de enfermagem. *Archives of Health Investigation*, v.6, n.9, p.418-422, 2017.

CRESPY, V.; WILLIAMSON, G. A review of the health effects of green tea catechins in vivo animal models. *Journal of Nutrition*, v. 134, n. 3, p. 3431-3440, 2004.

DANTAS, I. C. O Raizeiro. 22ª ed. Campina Grande: EDUEPB, 2007.

DOMIJAN, A. M. et al. Seed-borne fungi and ochratoxina a contamination of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L) in Replublic of Croatia. Food and Chemical Toxicology, v.43, n.3, p. 427-432, 2005.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. MultiCiência, v.7, p.1-16, 2006.

DUARTE, M. R.; MENARIM, D. O. Morfodiagnose da anatomia foliar e caulinar de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.16, n.4, p.545-551, 2006.

EVANGELISTA, S. S. et al. Fitoterápicos na odontologia: estudo etnobotânico na cidade de Manaus. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.15, n.4, p.513-519, 2013.

FIGUEIRA, L. W. et al. Extrato de chá verde (*Camellia sinensis*) promove ação antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*. Revista Univap, v.22, n.40, p.245, 2016.

FIGUEIREDO, D. R. *Avaliação da citotoxicidade do extrato hídrico da erva-doce (Pimpinella anisum L) através do teste em Allium cepa L.* 2014. 20f. Trabalho de conclusão de curso – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

FIORINI, R. N. et al. Short-term administration of (-)-epigallocatechin gallate reduces hepatic steatosis and protects against warm hepatic ischemia/reperfusion injury in steatotic mice. Liver Transplantation, v.11, n.3, p.298-308, 2005.

FOGLIO, M.A. et al. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. 2006. Disponível em <https://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_04_7.pdf>. Acesso em: 11 nov. 2017.

FORRER, M. et al. The antimicrobial activity of α -bisabolol and tea tree oil against *Solobacterium moorei*, a Gram-positive bacterium associated with halitosis. Archives of Oral Biology, v.58, n.1, p.10-16, 2013.

GIRARD, M.; HANAZAKI, N. Uso e conhecimento tradicional de plantas medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC. Acta Botanica Brasilica, v.24, n.2, p.395-406, 2010.

GONÇALO, C. S.; MIALHE, F. L. Contaminação das escovas dentais: uma revisão crítica da literatura. Revista Periondontia , v.19, n.3, p.56-63, 2009.

GÜLÇİN, I.; OKTAY, M.; KÜFREVIÖGLU, O. I. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. Food Chemistry, v.83, n.3, p.371-382, 2003.

HARTMANN, K. C.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais da camomila (*Matricaria chamomilla* L.). Revista Saúde e Pesquisa, v. 3, n.3, p. 279-284, 2010.

HOTWANI, K.; BALIGA, S.; SHARMA, K. Phytodentistry: use of medicinal plants. Journal of Complementary & Integrative Medicine, v.11, n.4, p.233-251, 2014.

JANTAN, I. B. et al. Correlation between chemical composition and antifungal activity of the essential oils of eight *Cinnamomum* species. Pharmaceutical Biology, v.46, n.6, p.406-412, 2008.

JARDIM DE FLORES. A aromática canela. 2018. Disponível em: <<http://www.jardimdeflores.com.br/floresefolhas/a20canela.htm>>. Acesso em: 05 jan. 2018.

JUNG, P. H. et al. Atividade inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. Floresta e Ambiente, v.20, n.2, p.191-196, 2013.

KADAN, S.; RAYAN, M.; RAYAN, A. Anticancer activity of Anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extract. The open nutraceuticals Journal, v. 6, p. 1-5, 2013.

KALRA, N.; PRASAD, S.; SHUKLA, Y. Antioxidant potential of black tea against 7,12 dimethylbenz(a)anthraceneinduced oxidative stress in Swiss albino mice. Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology, v.24, n.2, p.105-114, 2005.

KUHN, M. A.; WINSTON, D. Herbal therapy and supplements. Philadelphia: Lippincott, 2000.

LINS, R. et al. Avaliação clínica de bochechos com extratos de aroeira (*Schinusterebinthifolius*) e camomila (*Matricaria recutita* L.) sobre a placa bacteriana e a gengivite. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.15, n.1, p.112-120, 2013.

LIU, X. et al. Screening of food additives and plants extracts againts *Candida albicans in vitro* for prevention of dentadure stomatitis. Procedis Environmental Sciences, v.12, p.1361-1366, 2012.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum, 2002.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Química Nova, v.25, n.3, p.429-438, 2002.

MARTINS, E. R. et al. Plantas medicinais. 5ª ed. Viçosa: Editora UFV, 2003.

MARTINS, N. B. L.; HENRIQUES, M.; SILVA, S. Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. Industrial Crops and Products, v.74, p.648-670, 2015.

MATOS, F.J. Farmácias vivas – sistema de utilização de plantas medicinais para pequenas comunidades. 3. ed. Fortaleza: EUFC Edições, 1998.

MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Teores de catequinas e teaflovaninas em chás comercializados no Brasil. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26, n. 2, p. 401-407, 2006.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. *Revista Brasileira de Botânica*, v.6, n.2, p. 231-238, 2003.

MCKAY, D. L.; BLUMBERG, J. B. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research*, v.20, n.8, p.619-633, 2006.

MELO, R. M. et al. Identification of Impact Aroma Compounds in *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga) Leaf Essential Oil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.18, n.1, p.179-183, 2007.

MILANI, H. L. A. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do alho (*Allium sativum*) in natura. *Acta Scientia Biologica*, v.1, n.1, p.47-58, 2016.

MONGE, R. A. et al. The MAP kinases signal transduction network in *Candida albicans*. *Microbiology*, v.152, n.4, p.905-912, 2006.

MOTA, M. L. et al. *In vitro* and *in vivo* antimalarial activity of essential oils and chemical components from three medicinal plants found in northeastern Brazil. *Planta Medica*, v.78, n.7, p.658-664, 2012.

MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; PFALLER, M.A. *Microbiologia Médica*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

NAG-CHAUDHURI, A. K. et al. Anti-inflammatory activity of Indian black tea (Sikkim variety). *Pharmacological Research*, v.51, n.2, p.169-175, 2005.

NELSON FILHO P. FORP realiza estudo sobre importância da higienização de escovas de dente. 2009. Disponível em <<http://www.jornaldosite.com.br/materias/pesquisa&tecnologia/anteriores/edicao146/pesquisa14610.htm>>. Acesso em: 05 jan. 2018.

NOGAROTO, S. L.; PENNA, T. C. V. *Desinfecção e Esterilização*. São Paulo: Atheneu, 2006.

NOURI, M. H. K.; ABAD, N. A. Antinociceptive effect of *Matricaria chamomilla* on vincristine-induced peripheral neuropathy in mice. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 6, p. 24-29, 2012.

OGUNWANDE, I. A. et al. Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. *The International Journal of Aromatherapy*, Amsterdam, v.15, n.3, p.147-152, 2005.

PAIVA, L. C. A. et al. Avaliação clínica e laboratorial do gel da *Uncaria tomentosa* (Unha de Gato) sobre candidose oral. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.19, n.2, p.423-428, 2009.

PALOMBO, E. A. *Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity against Oral Bacteria: Potential Application in the Prevention and Treatment*

of Oral Diseases. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v.2011, p.1-15, 2011.

PEIXOTO, J. V. et al. Candidiase – uma revisão de literatura. Brazilian Journal of Surgery and clinical Research, v.8, n.2, p.75-82, 2014.

PEREIRA, A. V. et al. Determinação de compostos fenólicos em amostras comerciais de chás verde e preto - *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. Acta Scientiarum. Health Sciences, v.31, n.2, p.119-124, 2009.

PEREIRA, R. D. et al. ESTUDO *in vitro* DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO DE GUACO (*Mikania glomerata*) CONTRA *Candida albicans*. Conexão, v.9, n.1, p.31-38, 2014.

PINELLI, L. A. et al. Ricinus communis treatment of denture stomatitis in institutionalised elderly. Journal Oral Rehabilitation, v.40, n.5, p.375-380, 2013.

QUEIROZ, F. S. et al. Avaliação do perfil de armazenamento e descontaminação de escovas dentais. Revista odontologia UNESP, v.42, n.2, p.89-93, 2013.

REZENDE, M. C. R. A. et al. Descontaminação de escovas dentárias: métodos e eficácia. Archives of Health Investigation, v.4, n.1, p.50-57, 2015.

ROCHA, N. F. et al. Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of (-) - α - bisabolol in rodents. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology, v.384, n.6, p.525-533, 2011.

RODRIGUES, A. P. *Candida ssp em escovas dentais e eficácia de antimicrobianos na sua desinfecção*. 2009. 114f. Tese de doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2009.

ROSSI, T. et al. Interações entre *Candida albicans* e Hospedeiro. Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, v.32, n.10, p.15-28, 2011.

SALLES, M. M. et al. Antimicrobial activity of complete denture cleanser solutions based on sodium hypochlorite and *Ricinus communis* - a randomized clinical study. Journal Applied Oral Science, v.23, n.6, p.637-642, 2015.

SANTHOSH, K. T.; SWARNAM, J.; RAMADASAN, K. Potent suppressive effect of green tea polyphenols on tobacco-induced mutagenicity. Phytomedicine, v.12, n.3, p.216-220, 2005.

SANTOS, J. E. F. et al. Atividade antifúngica *in vitro* de plantas medicinais frente a leveduras isoladas de secreção vaginal. SaBios: Revista de Saúde e Biologia, v.11, n.3, p.34-44, 2016.

SARAVIA, M. E. et al. Viability of streptococcus mutans toothbrush bristles. Journal of Dentistry for Children, v.75, n.1, p.29-32, 2008.

- SCAVRONI, J. et al. Rendimento e composição química do óleo essencial de *Mentha piperita* L. submetida a aplicações de giberelina e citocinina. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.8, n.4, p.40-3, 2006.
- SCHMIDT, E. et al. Antifungal activity of eugenol-containing essential oils against 38 clinical isolates of *Candida albicans*. *Journal essential oil-bearing plants*, v.10, n.5, p.421-429, 2007.
- SCHULZ, V.; HÄNSEL, R.; TYLER, V. *Fitoterapia Racional: um guia de fitoterapia para as ciências da saúde*. 4ª ed. Barueri: Editora Manole, 2002.
- SFORCIN, J. M. et al. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v.73, n.1, p.243-249, 2000.
- SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2007.
- SINGH, R.; SHUSHNI, M. A. M.; BELKHEIR, A. Antibacterial and antioxidant activity of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*, v.4, n.1, p.1-20, 2011.
- SILVA, G. A.; STOPIGLIA, C. D. O.; GALARÇA, F. A. Análise da atividade antifúngica de enxaguantes bucais frente a *Candida albicans*. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*, v. 7, n. 2, 2015.
- SOARES, P. V. et al. Avaliação da contaminação de escovas dentais por microrganismos e da efetividade de antissépticos na sua descontaminação. *Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde*, v.12, n.3, p.5-10, 2010.
- SOBRAL-SOUZA, C. E. et al. Avaliação da atividade antioxidante e citoprotetora dos extratos de *Eugenia uniflora* Lineau e *Psidium soblealeanum* Proença & Landrum contra metais pesados. *Revista Ciencias de la Salud*, v.12, p.401-409, 2014.
- SOUZA, W. P. et al. Avaliação do teor e da composição química de óleo essencial de *Mentha piperita* (L.) Huds durante o período diurno em cultivo hidropônico. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.8, n.4, p.108-111, 2006.
- SOUZA, G. F. M. et al. Plantas medicinais x raizeiros: uso na odontologia. *Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial*, v.16, n.3, p. 21-29, 2016.
- SPER, F. L. et al. Ação do extrato de *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim) sobre biofilme formado por *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v.37, n.1, p.255, 2016.
- TORRES, S. B. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de erva-doce. *Revista Brasileira de Sementes*, v.26 n.2, p.20-24, 2004.
- TURCHETTI, B. et al. In vitro antimycotic activity of some plant extracts towards yeast and yeast-like strains. *Phytotherapy Research*, v.19, n.1, p.44-49, 2005.

VANIN, A. B. Produção, propriedades biológicas, antioxidantes e toxicidade do bioaromatizante obtido via esterificação enzimática de óleo essencial do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus*). 2014. 139f. Tese de Doutorado - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2014.

VARGAS, F. S. et al. Efeito Antimicrobiano e Citotóxico do Óleo Essencial de *Cymbopogon citratus* Sobre Células Odontoblastóides. *Revista Odontológica do Brasil-Central*, v.19, n.49, p.101-107, 2010.

VENTUROSOSO, L. R. et al. Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.12, n.4, p.499–505, 2010.

VICTORIA, F. N. et al. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: antioxidant and antimicrobial properties. *Food and Chemical Toxicology*, v.50, n.8, p.2668-2674, 2012.

VICTORIA, F. N. et al. Essential oils of *E. uniflora* leaves protect liver injury induced by acetaminophen. *Food Bioscience*, v. 4, p.50-57, 2013.

WEBB, B. C.; THOMAS, C. J.; WHITTLE, T. A 2-year study of Candida-associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. *Gerodontology*, v.22, n.3, p.168-176, 2005.

WRIGHT, S. C.; MAREE, J. E.; SIBANYONI, M. Treatment of oral thrush in HIV/AIDS patients with lemon juice and lemon grass (*Cymbopogon citratus*) and gentian violet. *Phytomedicine*, v.16, n.2-3, p.118-24, 2009.

ZÃO, E. J. R.; SILVA, M. A. N.; ALVES, M. U. Desinfecção e armazenamento de escovas dentais – Avaliação da prática realizada por acadêmicos do curso de odontologia da Universidade Severino Sombra – Vassouras – RJ. *Revista Pró-Universus*, v.2, n.1, p.53-64, 2011.