

SUSCEPTIBILIDADE *IN VITRO* DE BACTÉRIAS BUCAIS A TINTURAS FITOTERÁPICAS

SUSCEPTIBILITY IN VITRO OF THE BUCCAL BACTERIAS TO PHYTOTHERAPICS TINCTURES

Soares, Diana Gabriela de Sousa*
Oliveira, Cibele Braga de*
Leal, Cinira*
Drumond, Milana Ramos Santana*
Padilha, Wilton Wilney Nascimento**

RESUMO

O Brasil dispõe de uma diversidade de substâncias naturais com propriedades terapêuticas bastante difundidas dentro da Odontologia Preventiva. Neste trabalho, objetivou-se avaliar a atividade antibacteriana das tinturas de jucá, aroeira, gengibre, alfa vaca, própolis, romã e hortelã da folha graúda, sobre as linhagens de *S. aureus* (ATCC 25923), *S. mutans* (ATCC 2575), *S. sobrinus* (ATCC 27609), *S. mitis* (ATCC 9811), *S. sanguis* (ATCC 10557) e *L. casei* (ATCC 7469), utilizando-se a clorexidina 0,12% como controle positivo. Determinou-se a diluição inibitória máxima (DIM) em meio de cultura Agar Mueller Hinton, das tinturas nas formas pura (1:0) e diluídas de 1:1 até 1:32. Observou-se susceptibilidade variada das bactérias, sendo o *S. aureus* o microorganismo mais sensível. Dentre as tinturas, o jucá, a aroeira e a própolis apresentaram uma significativa atividade antibacteriana sobre *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. mitis*, *S. sanguis* e *L. casei*, sendo que o gengibre e a alfavaca apresentaram os menores espectros de ação frente às linhagens bacterianas avaliadas.

UNITERMOS: microbiologia; odontologia preventiva; fitoterapia.

SUMMARY

Brazil has a diversity of natural substances with therapeutic properties which are very diffused in the Preventive Dentistry. In this paper, the aim was evaluate the antibacterial activity in vitro of the phytotherapics tinctures from jucá, aroeira, gengibre, alfa vaca, própolis, romã and hortelã da folha graúda, against the bacterias sorts of ***S. aureus*** (ATCC 25923), ***S. mutans*** (ATCC 2575), ***S. sobrinus*** (ATCC 27609), ***S. mitis*** (ATCC 9811), ***S. sanguis*** (ATCC 10557) and ***L. casei*** (ATCC 7469), using the clorexidine 0,12% as positive control. Was determinated the Maximum Inhibitory Dilution (MID) in medium culture Agar Mueller Hinton, of the tictures in the pures forms (1:0) and in the dilutions froms from 1:1 to 1:32. Was observed a variated susceptibility of the bacterias, being the ***S. aureus*** the microorganism most sensible. The tinctures of jucá, aroeira and propolis presented a significative activity against ***S. mutans***, ***S. sobrinus***, ***S. mitis***, ***S. sanguis*** and ***L. casei***; the gengibre and the alfavaca showed the lowest actions toward the bacterias sorts tested.

UNITERMS: microbiology; preventive dentistry; phytoterapy.

* Acadêmica de Odontologia da Universidade Federal da Paraíba.

** Professor Doutor titular da disciplina de Clínica Integrada da Universidade Federal da Paraíba.

INTRODUÇÃO

Biofilme dentário é o termo utilizado para descrever comunidades de microorganismos ligados à superfície do dente, tendo o *Streptococcus mitis* e o *S. sanguis* como bactérias pioneiras. A presença do *S. mutans* e do *S. sobrinus*, é mais prevalente nas etapas iniciais da cárie. O *Lactobacillus casei* é encontrado na evolução da cavitação (Buisch², 2000).

Como microorganismo patogênico oportunista relevante na cavidade bucal, cita-se o *Staphylococcus aureus*. Esta bactéria tem a capacidade de atuar como uma microbiota suplementar, sendo freqüentemente encontrada em abscessos periapicais e estomatites protéticas (Martins et al.¹⁶, 2002).

O controle químico do biofilme auxilia a remoção mecânica, prevenindo a instalação da cárie e doenças gengivais, que estão intimamente relacionadas à sua presença. A clorexidina é um potente agente antimicrobiano, capaz de inibir o desenvolvimento dos microorganismos presentes no biofilme, porém apresenta efeitos adversos locais quando utilizada por tempo prolongado (Moran et al.¹⁷, 1992).

Desta forma, vê-se a necessidade de se desenvolver uma substância com potente atividade antimicrobiana, capaz de interferir no desenvolvimento do biofilme, que apresente efeitos colaterais reduzidos. Neste contexto, surgem os agentes naturais, que são economicamente viáveis, e constituem alternativas eficazes para afecções bucais (Moran et al.¹⁷, 1992; Pereira²³, 2002).

Dentre as substâncias naturais com uso na Odontologia, destacam-se o jucá, a aroeira, o gengibre, a alfavaca, a própolis, a romã e a hortelã da folha graúda, que devido às suas propriedades terapêuticas, possuem uso bastante difundido dentro da medicina popular no tratamento de diversas afecções bucais.

O jucá (*Caesalpinia férrea*) e a aroeira (*Schinus terebinthifolius*) apresentam atividade analgésica, antiinflamatória, antiulcerogênica e antibacteriana (Carvalho et al.³, 1996; Diniz et al.⁶, 1997). Os estudos realizados por Martinez et al.¹⁵ (1996) e Guerra et al.⁹ (2000), revelaram a significativa atividade antibacteriana do extrato etanólico da aroeira sobre *S. aureus*, como também sobre outros microorganismos, comprovando a eficácia desta planta como potente antimicrobiano.

O gengibre (*Zingiber officinale*) possui comprovada atividade antibacteriana e antioxidante (Leal et al.¹¹, 2003). Sua atividade antibacteriana

frente ao *S. aureus* foi estudada por Alzoreky et al.¹ (2003) e Nguefack et al.¹⁹ (2004), porém observou-se a baixa atividade frente a este microorganismo.

A alfavaca (*Ocimum basilicum*) possui atividade antibacteriana sobre bactérias gram positivas e gram negativas (Suppakul et al.²⁷, 2003). Os estudos antibacterianos do óleo essencial desta planta frente às diferentes linhagens de *S. aureus*, apresentaram resultados contraditórios entre os autores. Opalchenova et al.²⁰ (2003), mostram atividade antimicrobiana significativa, enquanto que Sartoratto et al.²⁶ (2004) e Nguefack et al.¹⁹ (2004), relataram sua baixa atividade.

A própolis apresenta ação cicatrizante, analgésica, antiinflamatória e antimicrobiana (Manara et al.¹⁴, 1999). Ao avaliar a ação antibacteriana da tintura de própolis sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*, Gebara et al.⁸ (1996) observaram inibição significativa do crescimento bacteriano, sendo *S. sobrinus* o mais sensível, indicando o uso desta substância sob a forma de bochechos ou incorporado a dentifrícios. De acordo com Uzel et al.²⁸ (2005), os flavonóides, são os constituintes responsáveis pela atividade antimicrobiana da própolis sobre microorganismos como o *S. mutans* e *S. sobrinus*.

Em estudos realizados por Park et al.²¹ (1998), Fernandes Júnior et al.⁷ (2001), Lu et al.¹² (2005) e Uzel et al.²⁸ (2005), foi verificada a atividade antibacteriana do extrato etanólico da própolis sobre o crescimento de *S. aureus*.

A casca do fruto da romã (*Punica granatum*), é rica em taninos, sendo utilizada como agente cicatrizante, antiinflamatório, antimicrobiano e anti-séptico (Diniz et al.⁶, 1997). A avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da romã foi realizada em estudos como o de Pereira²² (1998) e o de Pereira²³ (2002), onde foi verificada sua ação frente ao *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. mitis*, *S. sanguis* e *L. casei*, comprovando-se a eficácia do extrato da casca da romã quando comparada à clorexidina, mostrando a potencialidade de ambas as substâncias como agentes antimicrobianos sobre os microorganismos do biofilme.

Os testes antimicrobianos *in vitro* realizados por Prashanth et al.²⁴ (2001), com os extratos da romã, mostraram a susceptibilidade do *S. aureus*, pela técnica da concentração inibitória mínima. Com a utilização da mesma técnica, Machado et al.¹³ (2003) observaram o potencial antimicrobiano dos constituintes da romã, justificando sua ação antibacteriana pela presença dos taninos.

Holetz et al.¹⁰ (2002) sugere sua utilização no tratamento de infecções estafilocócicas, preconizando sua utilização dentro da medicina tradicional.

A hortelã da folha graúda (*Coleus amboinicus*) é utilizada como antitussígeno, antimicrobiano e antioxidante, sendo este último atribuído aos flavonóides presentes na sua constituição química. O carvacrol é um dos seus principais constituintes, ao qual atribui-se sua atividade antimicrobiana (Salmán et al.²⁵, 1996; Castillo et al.⁴, 1999). Suas folhas são conhecidas popularmente como expectorante, para o tratamento de inflamações da boca e da garganta, para rouquidão e mau hálito (Diniz et al.⁶, 1997).

Desta forma, propusemo-nos a avaliar o efeito antibacteriano *in vitro* de tinturas de jucá, aroeira, gengibre, alfavaca, própolis, romã e hortelã da folha graúda através da técnica da diluição inibitória máxima (DIM) sobre as linhagens de *S. aureus*, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguis*, *S. mitis* e *L. casei*.

MATERIAIS E MÉTODO

1. Tinturas utilizadas

As tinturas utilizadas foram adquiridas em farmácia de manipulação sendo preparadas através da maceração da planta seca utilizando-se o álcool como líquido extrator. Foram avaliadas as seguintes tinturas: (A) aroeira (*Schinus terebinthifolius*); (B) jucá (*Caesalpinia ferrea*); (C) romã (*Punica granatum*); (D) hortelã da folha graúda (*Coleus amboinicus*); (E) gengibre (*Zingiber officinalis*); (F) própolis (*Apis mellifera*); (G) alfa vaca (*Ocimum basilicum*). Como controle positivo, utilizou-se a clorexidina a 0,12% (H).

2. Seleção das cepas

As linhagens bacterianas utilizadas foram: *Streptococcus mutans* (ATCC 2575); *Streptococcus sobrinus* (ATCC 27607); *Streptococcus mitis* (ATCC 9811) e *Streptococcus sanguis* (ATCC 10557); *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Lactobacillus casei* (ATCC 7469). Cada linhagem bacteriana foi reativada em caldo nutritivo Brain Heart Infusion (BHI), incubada a 37°C por 24 horas em microaerofilia. Após a observação da turvação do meio, as linhagens foram semeadas em placas de petri contendo o meio de cultura Ágar Müller Hinton (DIFCO®) pela técnica de inundação.

3. Determinação da diluição inibitória máxima

A atividade antibacteriana foi avaliada pelo método de difusão em ágar em meio sólido para a determinação da DIM sobre as linhagens bacterianas. Foram confeccionados sete poços no meio de cultura Ágar Müller Hinton de 6 mm de diâmetro. Nos poços foram colocados o volume de 50 µl das tinturas pura (1:0) e diluídas de 1:1 até 1:32. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C em microaerofilia, obtida pela técnica da chama da vela, por um período de 24 horas. Verificou-se a presença de atividade antibacteriana através do aparecimento de halos de inibição. A DIM foi considerada a maior diluição capaz de inibir o crescimento bacteriano. Com o objetivo de controlar o estudo e assegurar a sua reprodutibilidade, os experimentos foram realizados em duplicata.

RESULTADOS

Os resultados da atividade antibacteriana *in vitro* para determinação da DIM das tinturas e da clorexidina estão expostos nos Quadros 1 e 2. As Figuras 1 a 4 são representativas da ação antibacteriana das tinturas de aroeira, jucá e romã e da clorexidina, respectivamente, sobre *S. aureus*.

QUADRO 1 – Média dos halos de inibição em mm, das tinturas e da clorexidina, através do Teste de Difusão em Agar, após 24 horas

Bactérias	Substâncias							
	A	B	C	D	E	F	G	H
<i>S. aureus</i>	10,8	14,2	18,0	9,1	7,1	15,4	13,7	17,1
<i>S. mutans</i>	7,8	9,7	3,4	8,0	2,5	12,8	1,1	16,2
<i>S. sobrinus</i>	8,0	9,7	3,1	3,0	4,0	9,4	1,4	14,0
<i>S. sanguis</i>	7,5	10,2	6,2	1,7	3,4	6,2	5,1	9,4
<i>S. mitis</i>	7,0	12,0	4,2	4,5	3,1	6,5	2,0	14,0
<i>L. casei</i>	9,5	10,8	3,1	5,7	2,8	8,5	0,0	14,8

QUADRO 2 – Diluição Inibitória Máxima (DIM) em mg/ml das substâncias sobre as linhagens bacterianas após 24 horas

Bactérias	Substâncias							
	A	B	C	D	E	F	G	H
<i>S. aureus</i>	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32
<i>S. mutans</i>	1:8	1:8	1:1	1:16	1:1	1:16	1:0	1:32
<i>S. sobrinus</i>	1:8	1:16	1:1	1:1	1:1	1:16	1:0	1:32
<i>S. sanguis</i>	1:8	1:16	1:4	1:0	1:1	1:4	1:4	1:8
<i>S. mitis</i>	1:8	1:32	1:2	1:1	1:1	1:4	1:0	1:32
<i>L. casei</i>	1:16	1:16	1:1	1:8	1:1	1:8	–	1:32

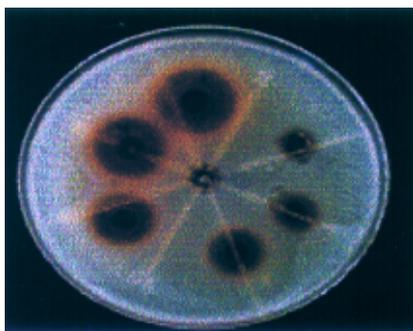


Figura 1 –
Atividade
antibacteriana
de A sobre
S. aureus



Figura 2 –
Atividade
antibacteriana
de B sobre
S. aureus

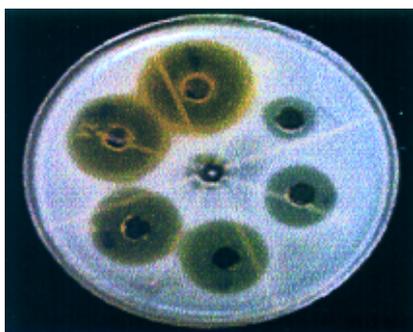


Figura 3 –
Atividade
antibacteriana
de C sobre
S. aureus

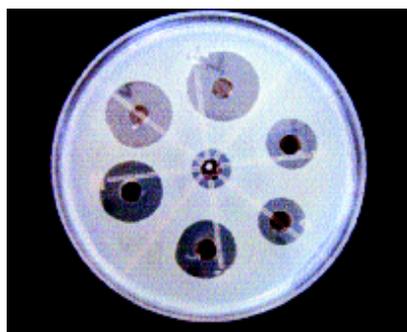


Figura 4 –
Atividade
antibacteriana
de H sobre
S. aureus

DISCUSSÃO

De acordo com este estudo, observou-se que o jucá e a aroeira apresentaram uma significativa capacidade de inibir o crescimento bacteriano de *S. aureus*, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguis* e *S. mitis*, sendo o *S. aureus* a bactéria mais sensível, quando comparada a clorexidina (Figuras 1 e 2).

Frente ao *S. aureus*, os achados relacionados à aroeira corroboram os estudos de Guerra et al.⁹ (2000) onde foi utilizado um extrato etanólico a 80% verificando-se inibição bacteriana até a última diluição, bem como com àquele realizado por Martinez et al.¹⁵ (1996) que encontrou atividade antibacteriana até a diluição de 1:1 mesmo em um extrato etanólico a 30%.

Neste estudo, o gengibre apresentou atividade antibacteriana para a diluição de 1:1 sobre as bactérias cariogênicas. Sobre o *S. aureus*, observou-se atividade até a última diluição, porém nos estudos realizados por Nguefack et al.¹⁹ (2004), com o óleo essencial, e por Alzoreky et al.¹ (2003), com o extrato metanólico, observou-se que esta substância apresentava-se como um fraco inibidor do crescimento sobre o microorganismo em questão. Os autores afirmam que a forma de apresentação da substância, bem como a forma de extração dos princípios ativos, podem influenciar a atividade antibacteriana.

Os dados encontrados da atividade antibacteriana da alfavaca evidenciam atividade na sua for-

ma pura para o *S. mutans*, *S. sobrinus* e *S. mitis*, e ausência de atividade sobre o *L. casei*. Com relação ao *S. sanguis*, nota-se que este microorganismo apresentou-se mais sensível, com inibição do crescimento até a diluição de 1:8. O *S. aureus* foi o mais susceptível, sugerindo a ação desta planta sobre este microorganismo.

Diversos estudos foram realizados com o extrato e o óleo essencial desta planta objetivando demonstrar sua atividade antibacteriana sobre o *S. aureus*, havendo divergência entre os resultados. Sobre a forma de extrato, Alzoreky et al.¹ (2003) e Nascimento et al.¹⁸ (2000) consideraram-na inativa sobre esta bactéria; Díaz et al.⁵ (2001) ratificam a atividade antibacteriana do extrato ao observarem que este apresentou elevada capacidade de inibir o crescimento de bactérias gram positivas, inclusive o *S. aureus*.

Estudos com o óleo essencial da alfavaca de realizados por Sartoratto²⁶ (2004) e Nguefack et al.¹⁹ (2004), demonstraram o baixo desempenho antibacteriano desta planta sobre diversos microorganismos, inclusive o *S. aureus*. Entretanto, Opalchenova et al.²⁰ (2003), observaram elevada atividade do óleo essencial sobre cepas de *S. aureus* resistentes a diversos antibióticos. Estes estudos explicam a diversidade dos resultados devido aos variados países de coleta das amostras, bem como pelas diferentes técnicas utilizadas.

As linhagens bacterianas testadas apresentaram susceptibilidade à tintura da própolis, sendo o *S. aureus* o microorganismo mais sensível, seguido do *S. mutans* e do *S. sobrinus*. Estes resultados corroboram as pesquisas de diversos autores, como Gebara et al.⁸ (1996), onde a tintura da própolis mostrou potente inibição do crescimento de *S. mutans* e *S. sobrinus*, como também no estudo de Uzel et al.²⁸ (2005), no qual o extrato etanólico foi eficaz sobre cepas de *S. sobrinus*, *S. mutans* e *S. aureus*.

No estudo de Park et al.²¹ (1998), pôde-se verificar a atividade antibacteriana variada da própolis sobre *S. mutans* e *S. aureus* de acordo com a região de coleta. O mesmo foi relatado por Fernandes Júnior et al.⁷ (2001) e Lu et al.¹² (2005) para o *S. aureus*. Estes autores concluíram que a atividade antibacteriana da própolis está relacionada à espécie de abelha e à região de coleta da amostra, o que pôde influenciar os resultados obtidos.

Com relação à romã, observou-se que *S. mutans*, *S. sobrinus* e *L. casei* tiveram seu crescimento inibido até a diluição de 1:1. Sobre *S. sanguis* e *S. mitis*, as DIMs observadas foram 1:4 e 1:2, respectivamente. O *S. aureus* foi o mais sensível, com DIM de 1:32, comparando-se à clorexidina (Figuras 3 e 4).

Segundo Pereira²² (1998) o extrato da casca da romã possui elevada atividade antibacteriana sobre *S. mutans*, *S. mitis* e *S. sanguis*; posteriormente Pereira²³ (2002) verificou ainda elevada susceptibilidade do *L. casei* e do *S. sobrinus*, sendo este último o mais sensível. Vários estudos mostram a potente atividade antibacteriana do extrato da romã sobre o *S. aureus*, como os de Prashanth et al.²⁴ (2001), Holetz et al.¹⁰ (2002) e Machado et al.¹³ (2003). Estes autores afirmam que estudos *in vivo* devem ser realizados para comprovar a eficácia antibacteriana desta substância.

Com relação à hortelã da folha graúda, observou-se que as bactérias apresentaram susceptibilidade variada, sendo o *S. aureus* o mais sensível, seguido do *S. mutans* e *S. sanguis*. O *L. casei* foi inibido até a diluição de 1:2, o *S. mitis* até 1:1 e o *S. sobrinus* apenas na sua forma pura.

CONCLUSÕES

De acordo com as condições do estudo pode-se concluir que:

- as bactérias obtiveram susceptibilidade variada frente às tinturas avaliadas;
- o *S. aureus* foi o microorganismo mais susceptível diante dos fitoterápicos testados;

- o jucá, a aroeira e a própolis apresentaram significativa atividade antibacteriana sobre *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. mitis*, *S. sanguis* e *L. casei*;
- a hortelã da folha graúda demonstrou potencialidade em inibir o crescimento de *S. mutans* e *L. casei*;
- o gengibre e a alfavaca apresentaram os menores espectros de ação frente às linhagens bacterianas avaliadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alzoreky NS, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Int J Food Microbiology*. 2003; 80(3):223-30.
- Buischi YP. Promoção de saúde bucal na clínica odontológica. São Paulo: Artes Médicas; 2000.
- Carvalho JCT et al. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpinia ferrea* crude extract. *J Ethnopharmacol*. 1996; 53(3):117-85.
- Castillo RAM, González VP. *Plecthranthus amboinicus* (lour.) spreng. *Rev Cubana Plant Med*. 1999;3(3): 110-5.
- Diaz HL, Jorge RM. Actividad antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. *Rev Cubana Plant Med*. 2001;6(2):44-7.
- Diniz MFFM, Oliveira RAG, Medeiros ACD, Malta Júnior A. Memento Fitoterápico: as plantas como alternativa terapêutica: aspectos populares e científicos. João Pessoa: Editora Universitária; 1997.
- Fernandes Júnior A, Leomil L, Fernandes AAH, Sforcin JM. The antibacterial activity of propolis produced by *apis mellifera* and brazilian stingless bees. *J Venom Anim Toxins*. 2001;7(2):173-82.
- Gebara ECE, Zardeto CGDC, Mayer MPA. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. *Rev de Odontol Univ São Paulo*. 1996;10(4):251-6.
- Guerra MJM, Barreiro ML, Rodríguez ZM, Rubalcaba Y. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* raddi (copal). *Rev cubana plant med*. 2000;5(1):23-5.
- Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DAG, Nakamura CV, Dias Filho BP. Screening of some plants used in brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97(7):1027-31.
- Leal PF, Braga MEM, Sato DN, Carvalho JE, Marques MOM, Meireles MAA. Functional roperties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. *J Agricultural Food Chemistry Table of Contents*. 2003;51(9):2520-5.
- Lu L, Chen Y, Chou C. Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. *Int J Food Microbiology* [article in press]. 2005. [Acesso em 06 jul. 2005]. Disponível em: <http://sciencedirect.com/science>
- Machado TB, Pinto AV, Pinto MCFR, Leal ICR, Silva MG, Amaral ACF, et al. *In vitro* activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphtho-

- quinones and their analogues, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Int J Antimicrobial Agents. 2003;21(3):279-84.
14. Manara LRB, Anconi SI, Gromatzky A, Conde MC, Bretz WA. Utilização da própolis em odontologia. Rev FOB. 1999;7(3/4):15-20.
 15. Martinez MJ, Gonzalez AN, Badell BJ. Actividad antimicrobiana del *Schinus terebenthifolius* Raddi (copal). Rev Cubana Plant Med. 1996;1(3):37-9.
 16. Martins CAP, Koga-Ito CY, Jorge C. Presence of *Staphylococcus* spp. and *Candida* spp. in the human oral. Braz J Microbiol. 2002;33(3).
 17. Moran J, Addy M, Roberts S. A comparison of natural product, triclosan and chlorhexidine mouthrinses on 4-day plaque regrowth. J Clin Periodont. 1992;19:578-82.
 18. Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Braz J Microbiol. 2000;31(4):247-56
 19. Nguefack J, Budde BB, Jakobsen M. Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: their antibacterial activity and ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of *Listeria innocua* examined by flow cytometry. Letters in Applied Microbiology. 2004;39(5):395-400.
 20. Opalchenova G, Obreshkova D. Comparative studies on the activity of basil – an essential oil from *Ocimum basilicum* L. – against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. J Microbiological Methods. 2003; 54(1):105-10.
 21. Park YK, Koo MH, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL. Effects of propolis on *Streptococcus mutans*, *Actinomyces naeslundii* and *Staphylococcus aureus*. Rev Microbiologia. 1998;29:143-8.
 22. Pereira JV. Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da *Punica granatum* Linn. sobre microorganismos formadores da placa bacteriana. João Pessoa, 1998. [Dissertação de Mestrado – Universidade Federal da Paraíba].
 23. Pereira, J. V. Estudos com o extrato da *Punica granatum* Linn (romã): efeito antimicrobiano *in vitro* e avaliação clínica de um dentífrico sobre microorganismo do biofilme dental. João Pessoa, 2002. [Tese de Doutorado – Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal da Bahia].
 24. Prashanth MK, Asha AA. Antibacterial activity of *Punica granatum*. Fitoterapia. 2001;72(2):171-3.
 25. Salmán JDG. Efecto antioxidante de los extractos fluido y de flavonoides del *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. (oregano frances). Rev Cubana Plant Med. 1996;1(2):27-30.
 26. Sartoratto A. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. Braz J Microbiology. 2004;35: 275-80.
 27. Suppakul P, Miltz J, Sonneveld K, Bigger SW. Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging. J Agricultural Food Chemistry. 2003;51(11):3197-207.
 28. Uzel A, Sorkun K, Onçag O, Çogulu D, Gençay O, Salih B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Antolian propolis samples. Microbiological Res. 2005;160(2):189-95.

Recebido para publicação em: 09/08/2005; aceito em: 05/01/2006.

Endereço para correspondência:

DIANA GABRIELA DE SOUSA SOARES
Rua Antônio Caetano Sorrentino, 38 – Brisamar
CEP 58033-480, João Pessoa, PB, Brasil
E-mail: diana.gabriela@terra.com.br