

UNILEÃO  
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ELYSABETH DIODATO TAVARES

**PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL  
DE *Vanillosmopsis arborea* BAKER (ASTERACEAE) E DO  $\alpha$ -BISABOLOL FRENTE  
À BACTÉRIA FORMADORA DE BIOFILME DENTÁRIO**

Juazeiro do Norte – CE  
2018

ELYSABETH DIODATO TAVARES

**PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL  
DE *Vanillosmopsis arborea* BAKER (ASTERACEAE) E DO  $\alpha$ -BISABOLOL FRENTE  
À BACTÉRIA FORMADORA DE BIOFILME DENTÁRIO**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

**Orientador:** Prof. Dr. Aracelio Viana Colares.  
**Co-orientador:** Victor Juno Alencar

Juazeiro do Norte – CE  
2018

Dedico este trabalho aos meus pais, Maria Lusinete Diodato e Francisco Tavares Moura, que sempre seguraram a minha mão enquanto eu buscava meus sonhos.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a Deus que se fez presente em cada passo durante a minha jornada; ao meu orientador, Aracelio Viana Colares, por sua dedicação, confiança, paciência e ensinamentos preciosos; aos meus pais, Francisco Tavares Moura e Maria Lusinete Diodato, por todo o esforço, apoio, educação e amor que sempre me proporcionaram; ao meu co-orientador, Victor Juno Alencar, por dedicar seu tempo e seus conhecimentos para que este trabalho pudesse ser desenvolvido; ao meu maior incentivador e companheiro, Francisco Gabriel Gomes Mendes, por sempre estar ao meu lado nos melhores e piores momentos; à Flávia Eduarda Vidal Barbosa e Ortencia Cassiano, por todo o auxílio prestado; à minha irmã, Emylly Diodato Tavares; e a todos os profissionais que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, o meu mais sincero obrigada.

# PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Vanillosmopsis arborea* BAKER (ASTERACEAE) E DO $\alpha$ -BISABOLOL FRENTE À BACTÉRIA FORMADORA DE BIOFILME DENTÁRIO

Elysabeth Diodato Tavares<sup>1</sup>; Aracelio Viana Colares<sup>2</sup>.

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* Baker (Asteraceae) e do alfa-bisabolol frente à bactéria formadora de biofilme dentário. Neste trabalho foi investigada a ação antimicrobiana, a capacidade de modificação do efeito da clorexidina, por meio da modulação, e a inibição da aderência *in vitro* do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* Baker (Asteraceae) e de seu composto majoritário alfa-bisabolol sobre cepa padrão de *Streptococcus mutans* ATCC 00446. Os ensaios foram realizados pelas técnicas de microdiluição em caldo para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e técnica de tubos inclinados para determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) ao vidro, na presença de 5% de sacarose. Na CIM não houve inibição do crescimento da bactéria testada com o óleo essencial e o alfa bisabolol. Na modulação com a clorexidina ambos não apresentaram resultados estatisticamente significativos. As CIMAs do óleo essencial e do alfa-bisabolol foram de 128ug/mL. Os resultados sugerem que o óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* e o alfa-bisabolol apresentam ação inibitória frente à formação do biofilme pela bactéria *Streptococcus mutans*, porém, fazem-se necessários novos estudos a fim de melhor esclarecer seu mecanismo de ação.

**Palavras-chave:** Biofilme. *Streptococcus mutans*. *Vanillosmopsis arborea*.

## ABSTRACT

The present study aims to evaluate the antimicrobial potential of the essential oil of *Vanillosmopsis arborea* Baker (Asteraceae) and alpha-bisabolol against the dental biofilm-forming bacteria. In this work was investigated the antimicrobial action, the ability to modify the effect of chlorhexidine by modulation, and the inhibition of *in vitro* adhesion the essential oil of *Vanillosmopsis arborea* Baker (Asteraceae) and its alpha-bisabolol major compound on a standard strain of *Streptococcus mutans* ATCC 00446. The assays were performed by broth microdilution techniques for the determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and sloped tube technique for determination of Minimum Inhibitory Adhesion Concentration (CIMA) in the presence of 5% sucrose. In the MIC, there was no inhibition of the growth of the bacteria tested with the essential oil and the alpha-bisabolol. In modulation with chlorhexidine both did not present statistically significant results. The CIMAs of the essential oil and alpha-bisabolol were 128ug / mL. The results suggest that the essential oil of *Vanillosmopsis arborea* and alpha-bisabolol present an inhibitory action against the formation of the biofilm by the bacterium *Streptococcus mutans*, however, new studies are necessary in order to better clarify its mechanism of action.

**Keywords:** Biofilm. *Streptococcus mutans*. *Vanillosmopsis arborea*.

<sup>1</sup> Discente do curso de Biomedicina. e.lysabeth@hotmail.com. Centro Universitário Leão Sampaio.

<sup>2</sup> Docente do curso de Biomedicina. aracelio@leaosampaio.edu.br. Centro Universitário Leão Sampaio.

## 1 INTRODUÇÃO

Denomina-se biofilme dentário um aglomerado de microrganismos presentes em uma matriz orgânica composta por substâncias salivares, restos alimentares e polímeros bacterianos. O mesmo ocorre, inicialmente, a partir do desenvolvimento de uma película através da adsorção de bactérias à superfície do dente mediante a liberação de exopolissacarídeos (EPS) insolúveis e a proliferação destes microrganismos, que ao acumularem-se formam o biofilme maduro. A placa bacteriana é considerada o fator mais importante dentro da etiologia da cárie, gengivites e periodontites, tendo como principal fator relacionado à sua formação uma higiene bucal deficiente (ALVES et al., 2008; PEREIRA et al., 2005; TEIXEIRA; BUENO; CORTÉS, 2010).

Diversos microrganismos do biofilme dental estão relacionados ao aparecimento de cáries, dentre eles encontra-se a bactéria *Streptococcus mutans*, considerada uma das principais bactérias associadas a este processo. A mesma compõe a microbiota oral normal e apresenta inúmeros mecanismos que auxiliam na sua sobrevivência, colonização e presença contínua na cavidade oral. Este microrganismo é capaz de produzir ácidos láctico, acético, fórmico e propiônico a partir da metabolização de açúcares provenientes da alimentação do hospedeiro. Estes ácidos são responsáveis pela perda de minerais da superfície do dente (BEZERRA et al., 2013; SILVA, 2010).

Visando a prevenção da formação do biofilme e, conseqüentemente, da cárie, diversos agentes químicos são utilizados, dentre eles destaca-se o gluconato de clorexidina devido sua eficácia na remoção do biofilme. Esta substância é um detergente catiônico, agindo na adsorção de componentes aniônicos como glicoproteínas salivares, radicais fosfatados e carboxílicos – bactérias e polissacarídeos extracelulares – presentes no biofilme dental. Entretanto, o uso da clorexidina pode apresentar algumas limitações como o surgimento de manchas, alterações no paladar e desequilíbrio da microbiota. Por este motivo, novas alternativas estão sendo estudadas, dentre elas, o uso de agentes de origem vegetal (FREIRES et al., 2010).

A espécie *Vanillosmopsis arborea* Baker, popularmente conhecida como candeeiro, é uma arvoreta nativa da Chapada do Araripe, localizada no Ceará, estado do Nordeste brasileiro. Trata-se de uma espécie vegetal pertencente à família Asteraceae que possui como composto majoritário de seu óleo essencial o alfa-bisabolol, um sesquiterpeno que apresenta em ensaios, dentre outras propriedades, atividade antimicrobiana (LEITE, 2017; SANTOS et al., 2011).

Nesse sentido, destaca-se a importância da continuidade da realização destes testes utilizando novas cepas, buscando maiores informações principalmente a respeito das bactérias formadoras de biofilme, visto que a cárie é considerada uma das disfunções odontológicas mais prevalentes no mundo. Desta forma, a utilização de substâncias de origem natural poderia agir de forma complementar aos procedimentos odontológicos existentes.

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* Baker (Asteraceae) e alfa-bisabolol frente a bactérias formadoras de biofilme dentário.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

O presente trabalho foi de natureza experimental, com abordagem qualitativa e quantitativa. A extração do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* e sua caracterização química foram realizadas na Universidade Regional do Cariri, no município de Crato – CE. Os testes microbiológicos foram desenvolvidos nos laboratórios de microbiologia e bioquímica do Centro Universitário Leão Sampaio, no município de Juazeiro do Norte – CE, no período de agosto a setembro de 2018.

### 2.2 MATERIAL BOTÂNICO E IDENTIFICAÇÃO

As entrecascas de *Vanillosmopsis arborea* foram coletadas em julho de 2017 na cidade do Crato-CE, localizados nas seguintes coordenadas geográficas obtidas por GPS (07°21'44,0''S e 39°28'41,0''W). O material vegetal foi identificado pela Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Regional do Cariri – URCA, e uma exsicata foi depositada sob o número 9493 no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima na mesma instituição.

### 2.3 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Vanillosmopsis arborea* BAKER E DO $\alpha$ -BISABOLOL

A extração do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* (OEVa) foi realizada utilizando-se sistema de hidrodestilação e coletado em um aparelho doseador tipo Cleavenger,

modificado por Gottlieb & Magalhães (1960). O procedimento se deu de forma que as entrecasas de *Vanillosmopsis arborea* foram depositadas em um balão de 5 litros juntamente com 2,5 L de água, e mantido em ebulição por 2 horas. Após obtida a mistura água/óleo no doseador, esta foi separada, tratada com sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e filtrada para haver separação total do óleo e da água. Foi utilizado  $\alpha$ -bisabolol comercial (Sigma-Aldrich).

#### 2.4 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Vanillosmopsis arborea* BAKER

A análise dos constituintes químicos do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* foi realizada usando o equipamento Shimadzu Cromatografia Gasosa, acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM) – QP2010 séries (GC/MS system) equipado com: coluna capilar Rtx-5MS (30m x 0,25mm d.i, película de 0,25 $\mu\text{m}$ ); carregado por gás hélio a 1,5 mL/min; velocidade de fluxo 0,8mL/min e modo de divisão. A temperatura do injetor e do detector foram de 250 °C para 200 °C, respectivamente. A temperatura da coluna foi programada de 35 °C para 180 °C/min e em seguida de 180 °C em 10 °C/min. Espectrômetro de massas operando com energia de ionização de 70 eV. A identificação dos componentes individuais foi baseada nas suas fragmentações baseadas na biblioteca NIST 08 e por comparação com dados da literatura (ADAMS, 2001).

#### 2.5 PREPARO DA SOLUÇÃO INICIAL E DAS SOLUÇÕES TESTE

Para realização dos testes microbiológicos foi preparada uma solução inicial, onde o óleo essencial e o  $\alpha$ -bisabolol foram solubilizados em DMSO à 2,5%. Em seguida, as soluções foram diluídas em água destilada atingindo uma concentração de 1024 $\mu\text{g/mL}$ , onde foram realizadas diluições seriadas durante o teste de microdiluição, obtendo as concentrações de óleo variando de 512 a 1 $\mu\text{g/mL}$ .

#### 2.6 MICRORGANISMO

Utilizou-se uma cepa bacteriana de *Streptococcus mutans* (ATCC 00446). O preparo do inóculo foi realizado a partir de uma placa contendo ágar BHI previamente semeada com a bactéria em estudo. Uma amostra da bactéria foi inoculada em um tubo de vidro contendo

solução salina, utilizando como controle o padrão de turvação 0,5 de McFarland, o que corresponde a  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL.

## 2.7 ENSAIO ANTIBACTERIANO E MODULADOR

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada através do método de microdiluição em caldo, em concentrações variáveis de 512 a 1  $\mu\text{g/mL}$  do óleo essencial e do alfa-bisabolol. Para ambos os testes, foi realizada a CIM da Clorexidina, nas concentrações de 0,12% a 0,00011%. No controle negativo foi depositado meio de cultura BHI caldo e no controle positivo foi meio mais inóculo. Para evidenciar a CIM, foram adicionados 20  $\mu\text{L}$  de resazurina sódica em cada poço da placa, com posterior leitura após 1 hora de incubação. A CIM para todos os produtos foi realizada em triplicata (MANN; MARKHAN, 1998).

Para verificar se o óleo e o alfa-bisabolol modificariam a ação da clorexidina frente às cepas testadas, utilizou-se o método proposto por Coutinho *et al.* (2008), onde as soluções do óleo e do composto foram testadas em concentração subinibitória (MIC/8) de 64  $\mu\text{g/mL}$ . Foram distribuídos 100  $\mu\text{L}$  de uma solução contendo BHI, inóculo e OEVa/alfa-bisabolol em cada poço no sentido numérico da placa. Em seguida, 100  $\mu\text{L}$  da clorexidina foi misturada ao primeiro poço, procedendo a microdiluição em série, numa proporção de 1:1 até a penúltima cavidade, obtendo concentrações a partir de 0,06%.

## 2.8 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIADERENTE *in vitro*

Para a determinação da atividade antiaderente *in vitro*, foi realizada a Concentração Inibitória Mínima da Aderência (CIMA) em tubos de ensaio contendo 2,5mL de BHI caldo com 5% de sacarose, 0,5mL de inóculo bacteriano, e 0,5mL da solução preparada com o OEVa e o alfa-bisabolol. Os tubos foram incubados com inclinação de 30°, a uma temperatura de 37°C por 24 horas em microaerofilia. A leitura foi realizada após adição de 3 gotas de evidenciador de placa. Esse teste foi realizado em duplicata (FREIRES et al., 2010).

## 2.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados obtidos com o CIM e modulação foram distribuídos em planilha utilizando software *Microsoft Excel*®2010 e em gráficos usando o programa *GraphPadPrism* 7.04. Os resultados foram comparados através de análise de variância (ANOVA) e a

comparação entre as médias geométricas foi realizada de acordo com teste de Bonferroni sendo considerado significativo quando  $p < 0,001$ .

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca por terapias mais acessíveis, com bons resultados terapêuticos e menor toxicidade impulsiona o uso de substâncias de origem vegetal para o tratamento e prevenção de diversas disfunções, inclusive odontológicas. Tendo em vista isso, o número de testes envolvendo potenciais fitoterápicos vem crescendo, pois é reconhecida a importância e a necessidade da obtenção de mais informações acerca da segurança e eficácia para utilização clínica destes compostos (FRANCISCO, 2010; GROppo et al., 2008).

A avaliação química do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* Baker evidenciou o alfa-bisabolol como seu composto majoritário, representando um pouco mais de 90% (Tabela 1), concordando com os dados apresentados na literatura. No estudo realizado por Santos (2009), o alfa-bisabolol também foi identificado como o componente presente em maior quantidade no OEVA, com aproximadamente 80%. Enquanto que na identificação realizada por Rocha e Silva (2018) este composto representou cerca de 75% da composição total. Estas variações podem ocorrer devido alterações ambientais como sazonalidade, temperatura, tempo de coleta, dentre outras (SOUSA, et al., 2010).

**Tabela 1** - Identificação de compostos do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* usando cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM).

<b>Compostos</b>	<b>Tempo de retenção (min)</b>	<b>(%)</b>
Metil eugenol	11.53	1.78
Óxido de bisabolol	15.41	1.08
$\alpha$ -bisabolol	16.95	91.02
Ftalato de dioctila	34.52	5.25
<b>Total</b>	-	<b>99.13</b>

Fonte: Próprio autor (2018).

Ensaio microbiológicos anteriormente realizados utilizando o óleo essencial de *V. arborea* evidenciaram propriedades inibitórias sobre o crescimento de algumas cepas bacterianas, tais como *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri* e *Klebsiella pneumoniae*. Além disso, tanto o óleo quanto o composto alfa-bisabolol isolado ainda apresentam atividade inibitória relevante contra cepas do gênero *Candida*, como *C. albicans* e *C. tropicalis*. No entanto, a literatura não relata sua ação contra a bactéria *Streptococcus mutans* ou sua interferência na formação de biofilmes por bactérias cariogênicas (RODRIGUES et al., 2018; SANTOS, 2009).

Porém, ao serem testados com a bactéria *Streptococcus mutans*, o óleo e o alfa-bisabolol, não apresentaram resultados significativos nas concentrações utilizadas, como evidenciado na Tabela 2, corroborando com os resultados obtidos por Sousa et al. (2008), onde ao utilizar o óleo essencial das folhas da espécie *Vanillosmopsis erythropappa* (candeia), o qual apresenta em sua composição um elevado número de sesquiterpenos, não foi verificada ação inibitória sobre a bactéria *S. mutans*. Em adição, Dalirsani et al. (2011) ao realizar um estudo comparativo entre extratos de variadas espécies vegetais e a clorexidina verificou que o extrato etanólico da espécie *Matricaria chamomillathyme* (camomila) não apresentou efeito sobre esta bactéria. Em contraste, a clorexidina foi capaz de inibir o microrganismo em questão até a concentração 0,00023%.

**Tabela 2** - Concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* e do  $\alpha$ -bisabolol frente à cepa de *Streptococcus mutans* formadora de biofilme dentário.

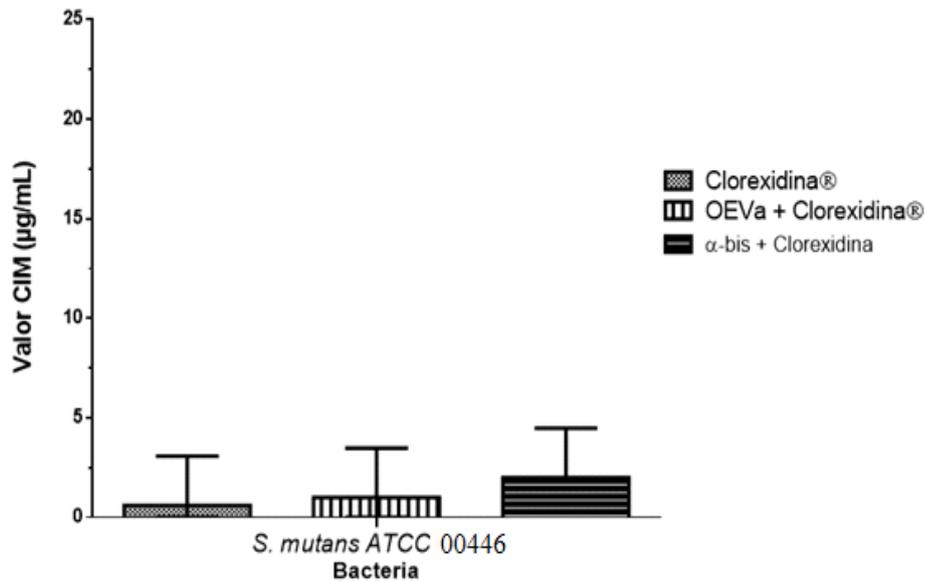
Composto	CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )
	<i>S. mutans</i> ATCC 00446
OEVa	$>512 \pm 0.088$
$\alpha$ -bisabolol	$>512 \pm 0.48$
Clorexidina®	$0,00023 \pm 0.047$

Fonte: Próprio autor (2018).

De acordo com Souza (2014) a atividade antibacteriana do alfa-bisabolol poderia ocorrer devido um mecanismo de ruptura da membrana celular bacteriana fazendo com que ao ser associado a antimicrobianos convencionais aumente a suscetibilidade de algumas espécies de bactérias. Entretanto, ao serem modulados com a clorexidina, tanto o OEVa quanto o alfa-bisabolol, não apresentaram efeitos positivos, onde a MIC obtida do OEVa + clorexidina foi

de 0,00093%, enquanto que a MIC do alfa-bisabolol + clorexidina foi de 0,0018%, reduzindo, dessa forma, a efetividade da clorexidina sobre a bactéria *S. mutans* (Gráfico 1).

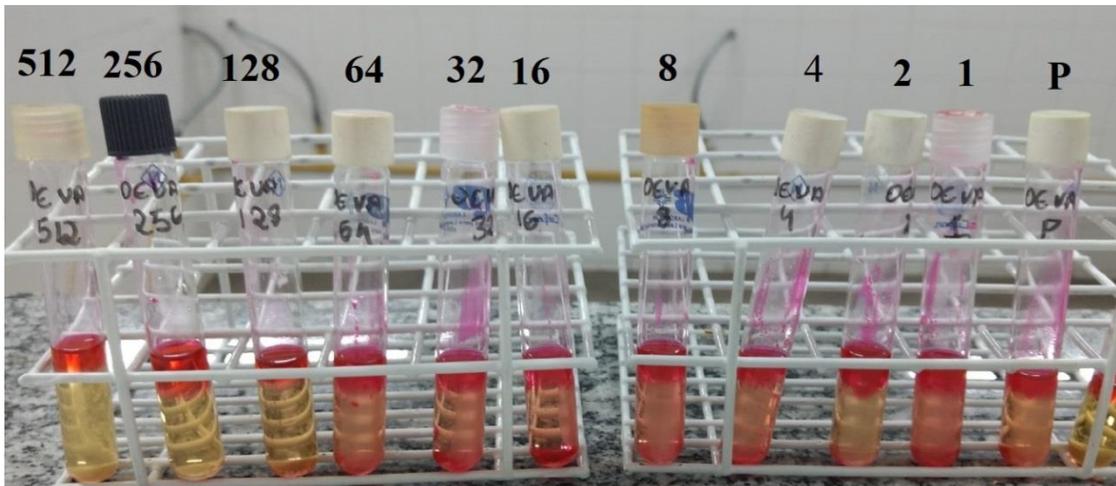
**Gráfico 1** - Atividade moduladora do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* (OEVa) e seu composto majoritário  $\alpha$ -bisabolol com clorexidina®, frente à cepa de bactéria formadora de biofilme dentário, *S. mutans*.



Fonte: Próprio autor (2018).

A aderência bacteriana ao vidro avaliada pela CIMA apresentou resultados significativos para o OEVa e para o alfa-bisabolol, onde ambos foram capazes de inibir a aderência da bactéria *S. mutans* nas concentrações 512 uL/mL, 256 uL/mL e 128 uL/mL. Nas Figuras 1 e 2 é possível verificar que os tubos que não apresentaram aderência bacteriana não exibem em sua parede a coloração rosada conferida pelo evidenciador de placa. Enquanto que a partir da concentração 64 uL/mL pode-se constatar a adesão da bactéria ao vidro, que aumenta gradativamente nos tubos subsequentes.

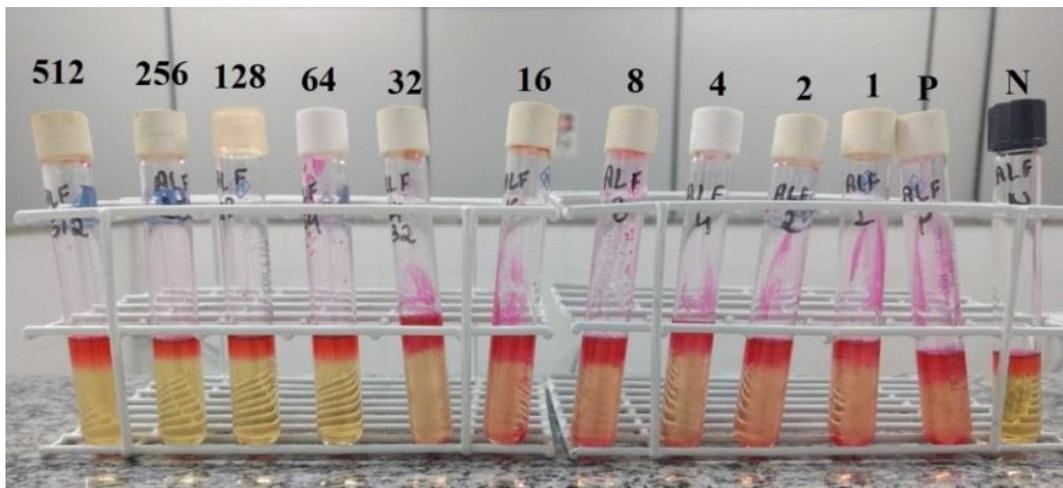
**Figura 1** - Resultado da CIMA com o OEVa - A coloração rosada na parede dos tubos indica onde houve a formação do biofilme pela bactéria *S. mutans*.



OEVa: Óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea*; P: meio mais inóculo.

Fonte: Próprio autor (2018).

**Figura 2** - Resultado da CIMA com o Alfa-bisabolol - A coloração rosada na parede dos tubos indica onde houve a formação do biofilme pela bactéria *S. mutans*.



ALF: Alfa-bisabolol; P: meio mais inóculo; N: apenas meio.

Fonte: Próprio autor (2018).

Os resultados obtidos corroboram com as conclusões apresentadas por Saleem e Al-Weheb (2012) onde, utilizando uma metodologia distinta, constataram que o extrato alcoólico de *Matricaria recutita* (camomila), o qual apresenta em sua composição elevadas concentrações de diversos mono e sesquiterpenos e seu óleo essencial, assim como *Vanillosmopsis arborea*, é composto, em grande parte, pelo alfa-bisabolol, apresenta, em

concentrações mais elevadas, atividade inibitória contra a formação do biofilme *in vitro* pela bactéria *S. mutans*.

#### 4 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos é possível concluir que o óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* e seu composto majoritário, alfa-bisabolol, não apresentam atividade inibitória frente à bactéria *Streptococcus mutans* nas condições testadas, e reduzem, ligeiramente, a efetividade da clorexidina. Entretanto, ambos são capazes de interferir na formação do biofilme, em determinadas concentrações, pela bactéria em questão, inibindo-o.

Desta forma, ressalta-se a importância de se realizar mais estudos buscando não somente maiores informações acerca do mecanismo de ação destes compostos, como também novos produtos de origem natural, sejam estes isolados ou associados, que possam ser utilizados na terapia odontológica e que sejam mais acessíveis e apresentem menos efeitos colaterais com seu uso em longo prazo.

#### REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography, Quadrupole Mass Spectroscopy**, 3. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2001.

ALVES, P. M. et al. Atividade antimicrobiana e antiaderente *in vitro* do extrato de *rosmarinus officinalis* linn. (alecrim) sobre microrganismos cariogênicos. **Arquivos em Odontologia**, v. 44, n. 2, 2008.

BEZERRA, L. M. D. et al. Atividade antibacteriana *in vitro* de fitoconstituintes sobre microrganismos do biofilme dentário. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 17, 2013.

COUTINHO, H. D. M. et al. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy**, v. 54, 2008.

DALIRSANI, Z. et al. *In vitro* Comparison of the Antimicrobial Activity of Ten Herbal Extracts Against *Streptococcus mutans* with Chlorhexidine. **Journal of Applied Sciences**, v. 11, n. 5, 2011.

FRANCISCO, K. M. S. Fitoterapia: uma opção para o tratamento odontológico. **Revista Saúde**, v. 2, 2010.

FREIRES, I. A. et al. Atividades antibacteriana e antiaderente *in vitro* de tinturas de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. **Odontologia Clínico-Científica**, v. 9, n. 3, 2010.

- GOTTLIEB, O. R.; MAGALHÃES, M. T. Modified distillation trap. **ChemistAnalyst**, v. 49, 1960.
- GROPPO, F. C. et al. Use of phytotherapy in dentistry. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 8, 2008.
- LEITE, G. O. **Avaliação da *Vanillosmopsis arborea* Baker e alfa-bisabolol frente a parâmetros oxidativos e toxicológicos**. 2017. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2017.
- MANN, C. M.; MARKHAM, J. L. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, 1998.
- PEREIRA, J. V. et al. Estudos com o extrato da *Punica granatum* linn. (romã): efeito antimicrobiano *in vitro* e avaliação clínica de um dentifício sobre microrganismos do biofilme dental. **Revista Odonto Ciência – Fac. Odonto/PUCRS**, v. 20, n. 49, 2005.
- ROCHA, J. M. Q.; SILVA, L. P. **Avaliação do potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* (Baker) Asteraceae e seu componente majoritário  $\alpha$ -bisabolol frente à bactérias formadoras do biofilme dental**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Centro Universitário Leão Sampaio, 2018.
- RODRIGUES, F. F. G. et al. In vitro antimicrobial activity of the essential oil from *Vanillosmopsis arborea* Barker (Asteraceae) and its major constituent,  $\alpha$ -bisabolol. **Microbial Pathogenesis**, v. 125, n. 2018, 2018.
- SALEEM, M. A.; AL-WEHEB, A. M. Effect of german chamomile (*matricaria recutita*) extracts on Mutans Streptococci in comparison to chlorhexidine gluconate: A comparative in vitro and in vivo study. **Journal of Baghdad College of Dentistry**, v. 4, 2012.
- SANTOS, H. R. et al. Rendimento e qualidade do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* Baker influenciado pelo diâmetro dos ramos. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. 2, 2011.
- SANTOS, N. K. A. **Verificação das Propriedades Antibacteriana e Farmacológica do Óleo Essencial de *Vanillosmopsis arborea* (Asteraceae) Baker**. 2009. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular) – Universidade Regional do Cariri, Crato, 2009.
- SILVA, A. C. B. **Streptococcus mutans e cárie dentária: estudos sobre a perspectiva de identificação de pacientes de risco à cárie e potencial da clorexidina como agente antimicrobiano bucal**. 2010. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.
- SOUSA, E. O. et al. Effect of collection time on essential oil composition of *Lantana camara* Linn (Verbenaceae) growing in Brazil Northeastern. **Records of Natural Products**, vol. 4, no. 1, pp. 31–37, 2010.
- SOUSA, O. V. et al. Estudo comparativo da composição química e da atividade biológica dos óleos essenciais das folhas de *Eremanthus erythropappus* (DC) McLeisch. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 89, n. 2, 2008.

SOUZA, F. C. B. **Incorporação de alfa-bisabolol em membranas de policaprolactona e de quitosana complexada com goma guar**. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, 2014.

TEIXEIRA, K. I. R.; BUENO, A. C.; CORTÉS, M. E. Processos físico-químicos no biofilme dentário relacionados à produção da cárie. **Química Nova na Escola**, v. 32, n. 3, 2010.