

Eficácia de um dentifrício sem flúor no controle de *Streptococcus mutans in vitro*

Effectiveness of a non-fluoridated dentifrice in control of Streptococcus mutans in vitro

Bruna Ackermann Schardong*

Carolina Ivi Cioba Bertuol**

Lúisa Weber Mercado***

Sandra Liana Henz****

Resumo

Objetivo: avaliar a eficácia de um dentifrício, que contém em sua composição extratos vegetais e xilitol para inibição de *Streptococcus mutans* (UA159). **Materiais e método:** para verificação da atividade antimicrobiana, foram realizados ensaios *in vitro* de difusão de ágar, baseados na metodologia da norma M2A8 Anvisa. O estudo foi feito utilizando inóculo de 10^8 UFC/mL da cepa de *S. mutans*. O princípio básico foi a difusão de uma solução de dentifrício na superfície do ágar a partir de um disco impregnado. O ensaio foi realizado utilizando como controle negativo água deionizada estéril e como controle positivo clorexidina 0,12%, e foram comparados aos dentifrícios Orgânico Natural® e Colgate Total 12®. O resultado foi analisado a partir da medição dos halos de inibição (mm). **Resultados:** a clorexidina 0,12% teve maior halo de inibição ($21,08 \pm 1,02$), seguida do dentifrício Orgânico Natural® ($11,33 \pm 4,35$) e do dentifrício Colgate Total 12 ($3,93 \pm 4,67$) $P < 0,05$. **Conclusão:** a inibição da cepa de *S. mutans* evidenciada neste ensaio *in vitro* demonstra o potencial antimicrobiano do dentifrício Orgânico Natural®, mesmo como um possível auxiliar no controle do biofilme dental cariogênico.

Palavras-chave: Dentifrício. Saúde bucal. *Streptococcus mutans*.

Introdução

O biofilme dental é o fator etiológico mais importante para a ocorrência de cárie e doença periodontal, sendo visível após um ou dois dias de higiene oral deficiente. Apesar de o controle mecânico ser o melhor método para remoção do biofilme das superfícies dentárias, a utilização de agentes antimicrobianos presentes em dentifrícios pode auxiliar na remoção ou facilitá-la.¹

O flúor presente nos dentifrícios é considerado a principal razão do declínio da cárie observado em muitos países. Ele tem a capacidade de interferir no início e na progressão da cárie, além de manter o equilíbrio mineral dos dentes.² Apesar dos benefícios já conhecidos da utilização de fluoretos, o uso exacerbado de flúor no período de formação dos dentes pode levar à fluorose dentária.³ Além disso, existe uma preocupação quanto aos efeitos do flúor sistêmico a longo prazo, o que leva algumas pessoas a buscar formas alternativas de higienização dos dentes, com produtos naturais e não fluoretados.⁴ Nesse contexto, atualmente são comercializados dentifrícios sem a adição de flúor e com a utilização de outras substâncias que possam ter efeito antimicrobiano.

O uso de plantas com finalidade terapêutica tem ampla aceitação popular e apoio da Organização Mundial da Saúde. O programa Plantas Medicinais

<http://dx.doi.org/10.5335/rfo.v23i2.8430>

* Graduada de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

** Graduada de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

*** Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, técnica do laboratório de Bioquímica e Microbiologia da Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

**** Doutora em Bioquímica, professora do Departamento de Odontologia Preventiva e Social, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

e Fitoterápicos da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares do Sistema Único de Saúde visa a estimular profissionais da área de saúde bucal a adotar plantas medicinais em seu esquema terapêutico, bem como a orientar a população acerca do uso dessas substâncias, conhecendo seus efeitos, contraindicações e riscos.⁵

Na composição do dentifrício em questão, estão presentes: extratos de semente de uva, de chá branco, de camomila e xilitol. Apesar de seu mecanismo exato e sua eficácia na cavidade oral ainda não serem claros, a semente de uva também afeta positivamente o processo de remineralização e, além disso, apresenta uma atividade antimicrobiana significativa frente ao *Streptococcus mutans*, sendo considerada capaz de inibir o crescimento e a formação de biofilme.⁶ Outros dois compostos do dentifrício em questão, a camomila e o extrato de chá branco, têm potencial antimicrobiano na cavidade oral comprovado, sendo eficazes também no tratamento da gengivite, prevenindo a inflamação do periodonto de proteção e, conseqüentemente, o sangramento supragengival.^{7,8}

O xilitol é uma das substâncias adicionadas a dentifrícios devido ao seu efeito antimicrobiano, uma vez que não pode ser metabolizado pelos micro-organismos orais.⁹ Com isso, o xilitol pode atuar no controle dos principais micro-organismos acidogênicos, como o *S. mutans*, com diminuição do seu metabolismo e redução da produção de ácidos que ocasionam processo de desmineralização do esmalte dentário.^{9,10} O efeito clínico de dentifrícios não fluoretados contendo agentes antimicrobianos ainda é controverso na literatura.¹¹⁻¹⁴ Estudos laboratoriais *in vitro* em geral têm comprovado a eficácia do xilitol em cepas de *S. mutans*,^{9,15-17} no entanto, outros estudos somente verificam sua ação, quando associado a fluoretos ou outros agentes antimicrobianos.¹⁸⁻²² Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia *in vitro* de um dentifrício não fluoretado (marca Orgânico Natural®) na inibição da cepa de *S. mutans*, um dos principais agentes etiológicos no processo da cárie dentária.

Materiais e método

Para a avaliação da eficácia do dentifrício na inibição do *S. mutans*, foi realizado ensaio *in vitro* de difusão em ágar, baseado na metodologia da norma M2-A8 proposta pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).²³ Foi uma metodologia quantitativa, e o princípio básico foi a difusão do antimicrobiano na superfície do ágar a partir de um disco de papel impregnado. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

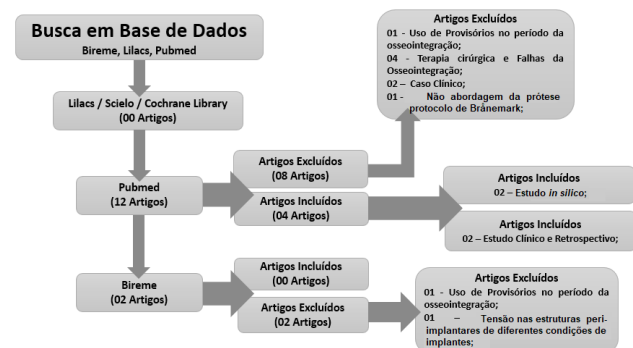
Para preparação do inóculo, foi utilizado o estoque da cepa de *S. mutans* UA159. Primeiramente, a cepa de *S. mutans* foi reativada em placas de petri

contendo meio Ágar Mueller-Hinton (DIFCO, Maryland, EUA) e incubada a 37° C em microaerofilia por 48 horas. A partir das colônias crescidas, foi realizada uma suspensão bacteriana em meio caldo Triptona de soja (TSB) (HIMEDIA, Mumbai, Índia) e incubada nas mesmas condições por 24 horas. Após o período de incubação, foi ajustada a turbidez da suspensão na escala de McFarland, correspondente a 1×10^8 UFC. mL⁻¹. O inóculo foi realizado pela sementeira de 200µL da suspensão bacteriana em placa de ágar Mueller-Hinton suplementado por sangue de carneiro desfibrinado a 5%.

O preparo dos dentifrícios (Colgate Total 12® e Orgânico Natural®) consistiu na diluição em 1:3 em água destilada. A clorexidina 0,12% foi utilizada na solução comercial (Colgate Periogard®) e a água destilada foi previamente esterilizada para utilização no ensaio.

Após o inóculo, discos de papel de tamanho padrão, previamente esterilizados, foram imersos nas soluções teste e controles e adicionados na placa de forma equidistante, totalizando 4 discos por placa, cada um correspondente a uma solução. As soluções teste foram: Orgânico Natural® e Colgate Total 12® (dentifrício fluoretado); e os controles do teste foram clorexidina 0,12% (controle positivo) e água (controle negativo). As placas foram incubadas por 48 horas a 37° C em microaerofilia. A Figura 1 sintetiza todas as etapas dos ensaios laboratoriais.

Figura 1 – Fluxograma da metodologia



Fonte: autores.

Após o período de incubação, foi realizada a medição do diâmetro dos halos de inibição com uma régua, e o resultado foi expresso em milímetros. Os resultados dos halos de inibição foram expressos em medianas das repetições e quartis. A análise estatística foi realizada no software R Studio team 2016,²⁴ por meio da comparação dos tratamentos pelo teste Kruskal-Wallis, seguido do teste Bonferroni, com nível de significância de 5%.

Resultados

Com o teste disco-difusão, foi possível observar que o controle negativo, água, não apresentou efeito sobre a bactéria *S. mutans*, e o controle positivo

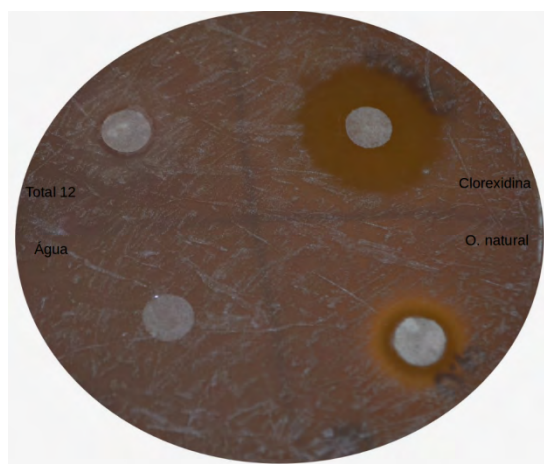
utilizado, a clorexidina, apresentou o maior halo de inibição, com mediana de 21,67 ($p < 0,05$). Em relação aos dentifrícios testados, verificou-se uma ação antibacteriana estatisticamente maior do dentifrício Orgânico Natural®, quando comparado ao dentifrício Colgate Total 12®. Na Tabela 1, é possível visualizar os resultados para os três produtos testados; enquanto na Figura 2 é possível observar os halos formados no teste de disco-difusão para as diferentes soluções testadas.

Tabela 1 – Halos de inibição (mediana; [1º quartil; 3º quartil]; mm) para o micro-organismo *S. mutans* em relação aos produtos analisados

Produtos	Resultado
Periogard®	21,67; [20,12; 21,65] ^a
Orgânico Natural®	12,70; [11,92; 13,06] ^b
Total 12®	0,00; [0,00; 8,50] ^c

Medianas seguidas por letras distintas diferem estatisticamente entre os produtos pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Bonferroni ($p < 0,05$).

Figura 2 – Aspecto dos halos de inibição após 48 horas de incubação das soluções com *S. mutans*



Fonte: autores.

Discussão

O presente trabalho teve como objetivo verificar a ação antimicrobiana do dentifrício Orgânico Natural® em relação à bactéria *S. mutans*, um dos principais agentes etiológicos da cárie dentária. Para tanto, foi realizado o teste de difusão em ágar do dentifrício, utilizando três outras substâncias como comparativos para análise da inibição dessa bactéria. A água foi utilizada como controle negativo. A clorexidina foi escolhida como controle positivo, pelo seu conhecido efeito no teste de disco-difusão. Ambos foram eficazes como controles do ensaio, demonstrando resultados constantes ao longo das repetições. O dentifrício Colgate Total 12® foi escolhido como comparativo, pois é um dentifrício de uso

popular, fluoretado, que também contém substâncias antimicrobianas veiculadas no creme dental.

A partir dos ensaios realizados, foi possível verificar que o dentifrício Orgânico Natural® teve melhor efeito antimicrobiano do que o dentifrício Colgate Total 12®, pois as médias do halo de inibição foram de 11,33 mm e de 3,93 mm, respectivamente. O efeito inibitório do dentifrício Orgânico Natural® pode estar relacionado à presença de extratos de plantas, como camomila, uva e chá branco, bem como de xilitol em sua composição.²⁵

O xilitol é um álcool que ocorre naturalmente em vegetais, também é produzido artificialmente a partir de plantas ricas em xilanos. O polioliol vem sendo adicionado a produtos, como gomas de mascar, enxaguatórios bucais e dentifrícios, na busca por potencializar o controle dos micro-organismos causadores da cárie dentária.¹⁰

O xilitol pode apresentar efeito anticariogênico e antibiofilme devido ao fato de não ser fermentado por micro-organismos orais, como *S. mutans*, impedindo que possam gerar energia de forma eficiente.^{9,10} Salli et al. (2016)¹⁵ verificaram, em estudo com formação de biofilme monoespécie *in vitro*, que o xilitol em concentrações crescentes (2-5%), mesmo na presença de sacarose, reduz a contagem de células e a colonização de cepa clínica de *S. mutans*. Em outro estudo, utilizando modelo de biofilme multiespécie *in vitro* e xilitol nas concentrações de 1 a 3%, houve redução da formação do biofilme, comparado ao controle.¹⁶ Cardoso et al. (2016)¹⁷ verificaram que um verniz experimental contendo 20% de xilitol sem flúor apresentou potencial remineralizador em ensaio realizado *in situ*.

O xilitol tem sido veiculado em dentifrícios e associado a fluoretos e substâncias, como triclosan e compostos fitoterápicos. A atividade antimicrobiana dos dentifrícios contendo xilitol pode ser realizada por meio da técnica de difusão em ágar, conforme realizado no presente estudo, com formação do halo de inibição como resultado. Lucena et al. (2016)⁹ compararam dentifrícios contendo xilitol ou xilitol + fluoreto e verificaram a formação de halo de inibição para ambos os dentifrícios testados. Coutinho Filho et al. (2008)¹⁸ verificaram que xilitol associado a fluoreto foi mais eficaz na inibição de biofilme de *S. mutans*, quando comparado ao tratamento somente com xilitol. Em estudo com dentifrícios experimentais comparados a dentifrícios fluoretados e não fluoretados com xilitol contra *S. mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Candida albicans*, o creme dental contendo xilitol não apresentou efeito antimicrobiano para nenhum dos micro-organismos testados, e o dentifrício utilizado como controle (fluoretado) apresentou halo de inibição para todos os micro-organismos.²⁰ Outro estudo comparou xilitol com outras substâncias antimicrobianas e não verificou nenhum efeito do álcool sobre uma cepa de *S. mutans*.²¹ Souza et al. (2015)¹⁹ avaliaram diferentes dentifrícios contra *S. mutans*

e *Candida albicans* e verificaram halo de inibição nos dentifrícios contendo tanto xilitol associado ao fluoreto quanto xilitol associado ao triclosan. Evans et al. (2015)²² testaram diversos dentifrícios infantis e componentes como xilitol e triclosan em diferentes concentrações contra *S. mutans*, *Streptococcus sanguinis* e *Lactobacillus acidophilus*. Quando testado isoladamente, o xilitol não apresentou inibição do crescimento das cepas em concentrações de 100 a 800ppm, e o triclosan apresentou efeito inverso, inibindo o crescimento em menores concentrações da substância.

O dentifrício Colgate Total 12® foi escolhido como comparativo para o ensaio de difusão em ágar no presente estudo por apresentar em sua composição triclosan. A substância é conhecida por ter efeito antibacteriano de amplo espectro, ocasionando o bloqueio da síntese de ácidos graxos e rompimentos da membrana citoplasmática tanto de bactérias gram-positivas como gram-negativas.²² No entanto, no presente estudo, surpreendentemente, não foi verificada a ação antibacteriana do dentifrício testado. Isso pode estar relacionado ao fato de, diferentemente do que ocorre na maioria dos estudos realizados, em que o dentifrício é testado sem realização de diluição, o triclosan, neste estudo, ter ficado muito diluído, diminuindo sua ação antimicrobiana.^{19,22,26}

Estudos laboratoriais são uma importante ferramenta para promover conhecimento sobre o efeito antimicrobiano dos dentifrícios presentes no mercado, porém é fundamental a realização de estudos clínicos que verifiquem sua real eficácia. Nesse sentido, diversos estudos clínicos avaliaram dentifrícios contendo xilitol. Em um ensaio clínico randomizado com 48 crianças de 13 a 15 anos de idade, que realizaram escovação 2 vezes ao dia por 6 semanas, os autores compararam três diferentes cremes dentais, com e sem xilitol. Foram avaliados índice de placa e índice de sangramento gengival no início e depois do período experimental. O dentifrício contendo xilitol apresentou redução de placa dentária, porém não foi eficaz na redução do índice gengival, fator relevante para a doença periodontal.¹¹ Em outro estudo, com 60 crianças, utilizando os mesmos dentifrícios, foi avaliado o efeito desses cremes dentais na redução do nível salivar de *S. mutans* e *Lactobacillus*, e constatou-se que o dentifrício contendo xilitol foi o que teve menor eficácia, quando comparado aos demais.¹³ Chi et al. (2014)¹⁴ testaram o efeito de uma pasta contendo 1,400 ppm de fluoreto-xilitol comparada a um dentifrício contendo 1,450 ppm fluoreto-sorbitol na redução de *S. mutans* e verificaram que a presença de xilitol não foi mais efetiva que o controle sem xilitol após 6 meses de acompanhamento. Enxaguatórios contendo xilitol ou xilitol associado a NaF foram testados em pacientes com nível de *S. mutans* > 5log/mL. O estudo compreendeu 80 pacientes que realizaram bochechos 3 vezes ao dia e escovação com pasta sem

flúor. Foi verificado que o enxaguatório com associação de fluor e xilitol foi mais eficiente na redução da contagem de *S. mutans* após 10 semanas de acompanhamento.¹²

Outras substâncias podem ser responsáveis pela inibição de *S. mutans* no presente estudo. Um estudo que comparou a eficácia de um bochecho à base de camomila e outro à base de romã, com solução aquosa de clorexidina 0,12%, em pacientes com doenças periodontais, verificou uma redução do sangramento gengival muito semelhante entre os grupos, demonstrando o controle antimicrobiano efetivo da camomila.²⁷

Zhao et al. (2014)⁶ analisaram as propriedades antiaderentes, anti-inflamatórias e antibacterianas de quatro tipos de chás, entre eles, chá branco, e concluíram que todos os chás testados podem contribuir para a manutenção da saúde gengival, inibindo o crescimento de *P. gingivalis* e sua adesão às células epiteliais orais. Além disso, outro estudo mostrou que o chá branco é capaz de auxiliar no processo de remineralização da dentina.⁷

Foi observada ação antimicrobiana do extrato de semente de uva contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Em concentrações de 2mg/mL, o extrato foi capaz de inibir patógenos orais, incluindo o *S. mutans*, além de bactérias periodontais anaeróbias.⁶

Frente ao exposto, verifica-se que a ação antimicrobiana do dentifrício Orgânico Natural® pode estar relacionada tanto ao xilitol quanto aos demais componentes da fórmula ou a um efeito sinérgico entre eles. Sabe-se que o método mais eficaz conhecido para prevenção de doenças da cavidade bucal é a remoção mecânica da placa por meio da escovação com dentifrício. A escovação com creme dental fluoretado é um importante método para a prevenção da cárie dentária e da doença periodontal.²⁸ Testes laboratoriais que avaliem o potencial antimicrobiano de dentifrícios são importantes para dar uma noção do efeito em cepas isoladas ou em biofilme. No entanto, a comprovação da eficácia de um dentifrício para controle de doenças, como cárie e periodontite, deve passar por ensaios clínicos randomizados, a fim de trazer melhor evidência para uso do produto.

Conclusões

Os resultados demonstram que o dentifrício Orgânico Natural® apresenta efeito antimicrobiano contra a cepa UA159 de *S. mutans*, evidenciando um emprego potencial desse dentifrício para modificar a cariogenicidade do biofilme. Estudos adicionais são necessários para verificar a efetividade quando utilizado *in vivo*.

Abstract

Objective: the goal was to evaluate the effectiveness of a dentifrice that has a chemical composition of plant extracts and xylitol to inhibit the *Streptococcus mutans* (UA159). **Materials and methods:** based on the methodology of the M2A8 Anvisa standard, *in vitro* agar diffusion assays were performed to verify antimicrobial activity. The study was carried out using inoculum of 10^8 CFU / mL of *S. mutans* strain. The principle was the diffusion of a dentifrice solution on the agar surface, from a disc impregnated therewith. The assay was performed using as a negative control the sterile deionized water, 0.12% chlorhexidine as a positive control compared to Orgânico Natural® and Colgate Total 12® toothpastes. The result was analyzed from the inhibition halos measurement (mm). **Results:** the chlorhexidine 0.12% had the biggest inhibition halo ($21,08 \pm 1,02$) followed by the Orgânico Natural® dentifrice ($11,33 \pm 4,35$) and the Colgate Total 12® dentifrice ($3,93 \pm 4,67$) $P < 0,05$. **Conclusion:** the inhibition of the *S. mutans* strain realized in these *in vitro* assay by the Orgânico Natural® dentifrice demonstrate the antimicrobial potential of the same as a possible aid in the control of the cariogenic dental biofilm.

Keywords: Dentifrice. Oral health. *Streptococcus mutans*.

Referências

1. Lins R, Vasconcelos FHP, Leite RB, Coelho-Soares RS, Barbosa DN. Avaliação clínica de bochechos com extratos de Aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e Camomila (*Matricaria recutita* L.) sobre a placa bacteriana e a gengivite. Rev Bras Pl Med 2013; 15(1):112-20.
2. Martins RS, Macêdo JB, Muniz FWMG, Carvalho RS, Moreira MMSM. Composição, princípios ativos e indicações clínicas dos dentifrícios: uma revisão da literatura entre 1989 e 2011. Jornal Health Sci Inst 2012; 30(3):287-91.
3. Leal SD, Carvalho FS, Carvalho CAP. Knowledge of dentistry students about rational use of fluoride. Rev Odontol UNESP 2015; 44(1):51-8.
4. Furtado GES, de Sousa MLR, Barbosa TS, Wada RS, Martínez-Mier ELA, de Almeida MEL. Percepção da fluorose dentária e avaliação da concordância entre pais e filhos: validação de um instrumento. Cad Saúde Pública 2012; 28(8):1493-505.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 971, de 3 de maio de 2006. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília; 2006.
6. Zhao W, Xie Q, Bedran-Russo AK, Pan S, Ling J, Wu CD. The preventive effect of grape seed extract on artificial enamel caries progression in a microbial biofilm-induced caries model. J Dent 2014; 42(8):1010-8.
7. Poornima J, Sanjeev K, Sekar S. Effect of Green and White Tea Pretreatment on Remineralization of Demineralized Dentin by CPP-ACFP-An *In vitro* Microhardness Analysis. J Clin Diagn Res 2016; 10(4):85-9.
8. Goes P, Dutra CS, Lisboa MR, Gondim DV, Leitão R, Brito GA, et al. Clinical efficacy of a 1% *Matricaria chamomile* L. mouthwash and 0.12% chlorhexidine for gingivitis control in patients undergoing orthodontic treatment with fixed appliances. J Oral Sci 2016; 58(4):569-74.
9. Lucena GM, França RS, Oliveira VA, Carlo HL, Carvalho FG. Effects of fluorine and xylitol in the antimicrobial activity of child dentifrices. REFACS (online) 2016; 5(1):101-7.
10. Nayak PA, Nayak UA, Khandelwal V. The effect of xylitol on dental caries and oral flora. Clin Cosmet Investig Dent 2014; 6:89-94.
11. Maden EA, Altun C, Açikel C. The Efficacy of Xylitol, Xylitol-Probiotic and Fluoride Dentifrices in Plaque Reduction and Gingival Inflammation in Children: A Randomised Controlled Clinical Trial. Oral Health Prev Dent 2017; 15(2):117-21.
12. Arunakull M, Thaweboon B, Thaweboon S, Asvanund Y, Charoenchakorn K. Efficacy of xylitol and fluoride mouthrinses on salivary *mutans Streptococci*. Asian Pac J Trop Biomed 2011; 1(6):488-90.
13. Maden EA, Altun C, Ozmen B, Basak F. Antimicrobial Effect of Toothpastes Containing Fluoride, Xylitol, or Xylitol-Probiotic on Salivary *S. mutans* and *Lactobacillus* in Children. Niger J Clin Pract 2018; 21(2):134-8.
14. Chi DL, Tut OK, Milgrom P. Cluster-randomized xylitol toothpaste trial for early childhood caries prevention. J Dent Child (Chic) 2014; 81(1):27-32.
15. Salli KM, Forssten SD, Lahtinen SJ, Ouweland AC. Influence of sucrose and xylitol on an early *S. mutans* biofilm in a dental simulator. Arch Oral Biol 2016; 70:39-46.
16. Badeta C, Furigaa A, Thébauda N. Effect of Xylitol on an *In Vitro* Model of Oral Biofilm. Oral Health Prev Dent 2008; 6(4):337-41.
17. Cardoso CAB, Cassiano LPS, Costa EN, Souza-e-Silva CM, Magalhães AC, Grizzo LT, et al. Effect of xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in situ. J Dent 2016; 50:74-8.
18. Coutinho Filho WP, Guaraldi ALM, Hirata Junior R, Passos M, Weyne SC. Efeito de componentes de dentifrícios infantis sobre *S. mutans* cultivados em biofilmes. Rev Bras Odontol 2008; 65(1):80-4.
19. Souza MLM, Gomes GB, Pereira SLS, Rocha MMNP, Jacques PB. Análise da ação antimicrobiana de cremes dentais infantis do mercado brasileiro. Rev Bras Prom Saúde 2015; 28(4):553-9.
20. Carvalho FG, Negrini TC, Sacramento LV, Hebling J, Spolidorio DM, Duque C. The In Vitro Antimicrobial Activity of Natural Infant Fluoride-free Toothpastes on Oral Microorganisms. J Dent Child (Chic) 2011; 78(1):3-8.
21. Eskandarian T, Motamedifar M, Arasteh P, Eghbali SS, Adibi A, Abdoli Z. Comparison of antimicrobial effects of titanium tetrafluoride, chlorhexidine, xylitol and sodium fluoride on *S. mutans*: an *in vitro* study. Electron Physician 2017; 9(3):4042-7.
22. Evans A, Leishman SJ, Walsh LJ, Seow WK. Inhibitory effects of children's toothpastes on *S. mutans*, *Streptococcus sanguinis* and *Lactobacillus acidophilus*. Eur Arch Paediatr Dent 2015; 16(2):219-26.
23. NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard □ Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-56238-485-6). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.
24. RStudio Team. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA; 2016. Available from: URL: <http://www.rstudio.com>.
25. Indústria Suavetex Ltda. Creme dental orgânico natural. Uberlândia, 2012. Available from: URL: <https://www.organiconatural.com.br>.

26. Pinto ATM, Silva DJ, Ribeiro ASC, Peixoto ITA. Atividade Antimicrobiana de Dentifrícios Fitoterápicos contra *S. mutans* e *Staphylococcus aureus*. UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde 2013; 15(4):259-63.
27. Batista AL, Lins RD, de Souza Coelho R, do Nascimento Barbosa D, Moura Belém N, Alves Celestino FJ. Clinical Efficacy analysis of the mouth rinsing with pomegranate and chamomile plant extracts in the gingival bleeding reduction. Complement Ther Clin Pract 2014; 20(1):93-8.
28. Magalhães AC, Moron BM, Comar LP, Buzalaf MAR. Uso racional dos dentifrícios. Rev Gaúcha Odontol 2011; 59(4): 615-25.

Endereço para correspondência:

Sandra Liana Henz
Departamento de Odontologia Preventiva e Social,
Faculdade de Odontologia, UFRGS
Rua Ramiro Barcelos, 2492
90035-004, Porto Alegre, RS, Brasil
Telefone: (51) 3308-5193
E-mail: slhenz@yahoo.com.br

Recebido: 31/07/18. Aceito: 30/08/18.