

## **Avaliação *in vitro* da eficácia do óleo de *Ocimum gratissimum* e ácido ferúlico no controle do crescimento das bactérias da placa dentária e cálculo em cães**

*In vitro* evaluation of the efficiency of *Ocimum gratissimum* oil and ferulic acid in controlling the development of dental plaque and calculus in dogs

Evaluación *in vitro* de la eficiencia del aceite de *Ocimum gratissimum* y ácido ferúlico en el control del crecimiento de las bacterias de la placa y cálculo dental en perros

Recebido: 29/07/2022 | Revisado: 09/08/2022 | Aceito: 11/08/2022 | Publicado: 21/08/2022

**Maria Borges Pereira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6822-1139>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: [maria.borges@aluno.unifenas.br](mailto:maria.borges@aluno.unifenas.br)

**Nelma de Mello Silva Oliveira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1114-2018>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: [nelma.oliveira@unifenas.br](mailto:nelma.oliveira@unifenas.br)

**Ana Augusta Pagnano Derussi**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5615-7291>

Autônoma, Brasil

E-mail: [ana\\_pagnano@yahoo.com.br](mailto:ana_pagnano@yahoo.com.br)

**Pedro Ivo Sodré Amaral**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2366-2088>

Universidade José do Rosário Vellano, Brasil

E-mail: [pedro.amaral@unifenas.br](mailto:pedro.amaral@unifenas.br)

### **Resumo**

A placa e o cálculo dentário em cães são duas das afecções mais prevalentes na clínica de pequenos animais. O acúmulo de bactérias promovido por eles é, também, a principal etiologia da doença periodontal, que danifica os tecidos de sustentação dentária e, quando não tratada, pode gerar repercussões sistêmicas. A escovação dentária diária é a melhor forma de prevenção contra essas moléstias, porém, a grande maioria dos tutores não possui esse costume e os produtos existentes no mercado para esse fim podem gerar efeitos colaterais quando usados a longo prazo. Sendo assim, o presente trabalho buscou avaliar a eficácia do óleo de *Ocimum gratissimum* e do ácido ferúlico, principal componente do extrato de própolis marrom no combate das bactérias formadoras de placa e cálculo, introduzindo uma opção fitoterápica, menos agressiva, aos possíveis tratamentos dessas doenças. Para isso, foram coletadas 14 amostras de placa e cálculo dentário de cães de diferentes idades, sexo e raças, identificados os microrganismos presentes em tais amostras e realizado o teste de difusão em ágar e avaliação de diâmetros de halo formados por cada tratamento de interesse. O estudo demonstrou que os dois tratamentos mais eficazes dentre os estudados, foram o óleo de *Ocimum gratissimum* e sua associação ao ácido ferúlico e um gel comercial à base de própolis, ambos tendo demonstrado resultados equivalentes.

**Palavras-chave:** Placa dentária; Cálculo dentário; Óleos vegetais; *Ocimum gratissimum*; Ácido ferúlico.

### **Abstract**

Dental plaque and calculus are two of the most common diseases in small animal veterinary practice. They promote de accumulation of bacteria on the surface of canine teeth, which is also the main cause of periodontal disease. Periodontal disease destroys the tissue that supports the teeth and when left untreated can have systemic repercussions. Daily brushing of the dog's teeth is the most effective method of preventing these afflictions, but that is still not a reality for most owners and many of the products available on the market for that purpose have negative long term effects for the patient's health. With that being said, this project sought to test the efficiency of *Ocimum gratissimum* oil and ferulic acid, main component of brown propolis extract, in combatting the bacteria that produces dental plaque and calculus, introducing a less aggressive option for the treatment of these diseases. In order to do so, 14 samples of plaque and calculus were collected from dogs of different ages, sex and breeds; the microorganisms present in those samples were identified and agar diffusion tests and evaluation of inhibition halo diameters were performed for each treatment of interest. The study showed that the most efficient treatments were the *Ocimum*

*gratissimum* oil as well as its association with ferulic acid and an existent commercial propolis based gel, both having had equivalent results.

**Keywords:** Dental plaque; Dental calculus; Plant oils; *Ocimum gratissimum*; Ferulic acid.

### Resumen

La placa y el calculo dental son dos de las afecciones más predominantes en la clínica de pequeños animales. La acumulación de bacterias promovida por ellas es, también, la principal etiología de la enfermedad periodontal, que daña los tejidos de apoyo de los dientes y, si no tratada, puede generar enfermedades sistémicas. Cepillar los dientes de los perros diariamente es la mejor manera de prevenir estas enfermedades, pero la gran mayoría de los dueños no lo hacen y los productos existentes actualmente en el mercado pueden tener efectos secundarios a largo plazo. Así, este trabajo avaló la eficiencia del aceite de *Ocimum gratissimum* y ácido ferúlico, principal componente del extracto de propóleo marrón en el control de crecimiento de las bacterias de la placa y calculo dental, introduciendo una nueva opción de tratamiento, menos agresivo, para estas enfermedades. Para eso, fueron recogidas 14 muestras de placa y calculo dental de perros de diferentes edades, sexo y razas, fueron identificados los microorganismos en ellas y hecha la prueba de difusión en agar y evaluación de los diámetros de halo producidos por cada tratamiento de interés. El trabajo muestra que los tratamientos más eficientes fueron el aceite de *Ocimum gratissimum* y su asociación con el ácido ferúlico e con un producto comercial que tiene como base el propóleo.

**Palabras clave:** Placa dental; Calculo dental; Aceite vegetal; *Ocimum gratissimum*; Ácido ferúlico.

## 1. Introdução

Nos últimos anos, tem crescido a área da odontologia veterinária, dado que as afecções da cavidade oral de cães são extremamente comuns e produzem sinais clínicos que incomodam não só aos animais, mas também aos tutores. De acordo com Santos, Carlos e Albuquerque (2012), essas doenças afetam dentes, gengivas e tecidos moles adjacentes e, se não tratadas efetivamente, podem ocasionar o desenvolvimento de afecções sistêmicas.

Uma das doenças de cavidade oral mais comuns nos cães é a doença periodontal (D.P), que afeta até 85 % de animais acima de três anos de idade (Garcia et al., 2008). Como descrito por Campos, Freitas e Gomes (2019), a etiologia da D.P é multifatorial, sendo influenciada pela raça, idade e hábitos alimentares do cão, porém em todos os casos, as bactérias formadoras da placa e do cálculo perpetuam e potencializam o desenvolvimento da doença.

Sinais clínicos apresentados por cães que sofrem de doença periodontal podem incluir halitose; mudança na coloração dos dentes; dificuldade de apreender e mastigar alimento; eritema, retração e sangramento gengival; amolecimento e perda de dentes (Teixeira, 2016). Por outro lado, Santos (2018) descreve que em casos mais graves da doença, nos quais as bactérias da cavidade oral caem na corrente sanguínea, podem ser observados sinais sistêmicos como a febre e acometimento e disfunção de outros órgãos, como coração e fígado.

Atualmente, entende-se que o melhor combate à D.P é a prevenção por meio da escovação periódica dos dentes (Gouveia, 2009), porém a cultura da higiene bucal ainda não foi amplamente difundida na espécie canina. Dessa forma, o que se observa na rotina da clínica veterinária é um alto número de animais que são submetidos à profilaxia dentária, procedimento cirúrgico para a remoção física da placa e cálculo já instaurados; porém, é igualmente comum que esses animais tenham recidivas à medida que não mantenham uma rotina de escovação adequada após o tratamento.

Já na ocasião em que tutores realizam a escovação dos dentes de seus cães, seja antes ou depois da realização da profilaxia oral, os produtos disponíveis no mercado para fazê-lo, geralmente, têm como princípios ativos substâncias como a clorexidina que, se utilizadas à longo prazo, causam danos à mucosa oral canina (Pieri et al., 2010).

Como alternativa para tais substâncias comerciais mais abrasivas, existem aquelas fitoterápicas, que vêm sendo fonte de crescente interesse pela comunidade científica, dado suas propriedades bactericidas, antissépticas e anti-inflamatórias descritas em literatura (Michelin, 2005). Dentre elas, o óleo de *Ocimum gratissimum*, popularmente conhecido como “alfavaca”, é caracterizado como portador de efeitos inseticidas, nematicidas e antimicrobianos, especialmente frente bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Enterococcus* e *Pseudomonas* (Politeo et al., 2007).

Já o extrato própolis marrom, é extremamente rico em ácido ferúlico, um fitoquímico fenólico natural que além da ação antimicrobiana, possui também importantes propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Picoli et al., 2016), sendo estas características que tornam ambos os compostos potencialmente promissores ao combate da placa bacteriana.

Sendo assim, buscou-se, no presente estudo, avaliar a eficácia *in vitro* do óleo de *Ocimum gratissimum* e do ácido ferúlico contra as bactérias formadoras de placa e cálculo dentário, por meio da metodologia do teste de difusão em ágar, de maneira isolada e associada a um gel dentário à base de própolis já existente no mercado. Dessa forma, os resultados obtidos podem não só aprimorar uma formulação já existente, mas também inspirar futuros estudos na área da fitoterapia associada à odontologia veterinária.

## 2. Metodologia

O experimento foi realizado nas instalações da Universidade José do Rosário Vellano, Rod. MG 179, Km 0, s/n Campus Universitário - Trevo, Alfenas - MG, 37130-000. A coleta das amostras e os procedimentos cirúrgicos foram realizados no Hospital Veterinário da Unifenas - Alfenas e em clínicas veterinárias particulares da cidade de Alfenas-MG. A obtenção de extratos naturais e cultivo bacteriano, foram realizados no Laboratório de Biologia e Fisiologia de Microrganismos da referida universidade, no setor de Agronomia e o projeto teve aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o número 12A\_2019.

Foram coletadas amostras provenientes de um total de 14 cães, machos e fêmeas, hígidos mediante exame clínico, de variadas idades, com estágios de doença periodontal variando de 1 a 3 de acordo com a classificação proposta pela World Small Animal Veterinary Association (2020).

As amostras de placa e cálculo dentário foram coletadas com swab estéril contendo meio Carry Blair, por meio da fricção do swab contra os todos os dentes do animal, buscando-se alcançar o material mais próximo da região subgingival possível. Em seguida, esses foram adicionados a tubos de ensaio contendo caldo BHI para o crescimento microbiano.

Afim de identificar o perfil de microrganismos presentes nas amostras, essas foram espalhadas em meios de cultura específicos e, visualmente, comparadas com cepas controle de *Candida spp.*; *E. Coli*; *Staphylococcus spp.* e *Streptococcus spp.* Para avaliar o crescimento de *Candida spp.*, as amostras foram inoculadas em meio CHROMagar candida; para *E. Coli*, em CHROMagar Orientation e EMB; para *Staphylococcus spp.*, em CHROMagar Orientation e Baird-Parker e, para *Streptococcus spp.*, ágar sangue.

Posteriormente, visando a avaliação da atividade microbiana das amostras, assim como a eficácia dos tratamentos a serem estudados, foi realizado o teste de difusão em ágar Müeller Hinton. Esse teste consiste no cultivo de microrganismos a serem testados em meios específicos e, posterior, desafio dos mesmos frente substâncias antimicrobianas, sendo a eficácia dos tratamentos relacionada ao diâmetro de halo produzido por eles na placa. De acordo com Ostrosky et al. (2008), o teste de difusão em ágar é um dos mais eficazes na avaliação de atividade antimicrobiana de extratos vegetais, sendo importante ferramenta na descoberta de novos agentes farmacêuticos eficazes e menos agressivos, especialmente no Brasil dada a sua abundante biodiversidade.

Para isso, primeiramente, o ágar foi despejado em 14 placas de Petri e, após o descanso necessário para a sua solidificação, as amostras foram diluídas segundo a escala de Mc Feyre 0,5 e espalhadas cada uma em uma placa. Em seguida, nelas foram perfurados 6 poços, para 6 tratamentos fluídos, assim como reservada uma área no centro para a colocação do controle positivo infundido em disco, sendo essa uma associação do método clássico de difusão e de perfuração em ágar descritos por Ostrosky et al. (2008). Por fim, 150 mL de cada um dos tratamentos apresentados no

Quadro 1 foram adicionados ao poço identificado pelo número correspondente, sendo observada após 24 horas a formação de halo ao redor deles e, conseqüentemente, sua eficácia contra os microrganismos ali presentes.

**Quadro 1** – Relação de tratamentos utilizados no experimento:

Número	Tratamento
1	Creme dental à base de própolis
2	Óleo de alfavaca + DMSO 20%
3	Ácido ferúlico
4	Creme dental à base de própolis (1) + óleo de alfavaca + DMSO 20% (2)
5	Creme dental à base de própolis (1) + ácido ferúlico (3)
6	Creme dental à base de própolis (1) + óleo de alfavaca + DMSO 20% (2) + ácido ferúlico (3)
7	Clindamicina em disco (controle +)

Fonte: Arquivo pessoal (2022).

### 3. Resultados e Discussão

Primeiramente, foi realizada a identificação dos microrganismos presentes nas amostras coletadas por meio da comparação das mesmas com cepas controle dos seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.* e *Candida spp.* Os resultados obtidos em tal teste estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1** – Identificação de microrganismos, segundo os meios utilizados, presentes nas amostras:

Amostra	BP <i>Staphylococcus aureus</i>	CO <i>Staphylococcus aureus</i>	CO <i>E. coli</i>	EMB <i>E. coli</i>	AS <i>Streptococcus spp.</i>	CC <i>Candida spp.</i>
1	+	-	+	-	+	<i>C. tropicale</i>
2	+	-	+	-	+	-
3	+	-	-	+	+	-
4	+	-	-	+	+	-
5	+	+	+	+	+	-
1	+	-	-	+	-	-
2	+	+	-	+	+	<i>C. tropicale</i>
3	+	-	-	+	+	-
4	+	-	-	-	+	-
5	+	-	-	-	-	-
6	+	+	-	-	+	-
7	+	-	+	-	-	-
8	+	-	-	+	+	-
9	+	-	-	-	+	-

BP – Baird-Parker.  
 CO – CHROMagar orientation.  
 EMB – meio BEM.  
 AS – Ágar sangue.  
 CC – CHROMagar cândida.  
 Fonte: Arquivo pessoal (2022).

C

om

base nos resultados acima, observa-se que houve crescimento de *Staphylococcus aureus* em 100% das amostras quando inoculadas sobre o meio Baird-Parker, porém apenas em 21,43% das mesmas, quando inoculadas sobre o meio CHROMagar orientation. Tendo em vista que o meio Baird-Parker é específico para *Staphylococcus aureus* e o meio CHROMagar

orientation não, sendo essa bactéria uma dentre oito que podem ser cultivadas nesse meio, a ausência de seu crescimento no CHROMagar orientation não é achado suficientemente relevante para contestar a presença de *Staphylococcus aureus* nas amostras. De acordo com Fonseca et al. (2011), bactérias do gênero *Staphylococcus* são parte da microbiota natural da cavidade oral dos cães, não sendo necessariamente indicativos de doença, porém a presença de *Staphylococcus aureus* foi correlacionada a casos avançados de D.P. Outros autores, como Pieri (2012) e Santos (2018) descrevem a presença da bactéria em casos de D.P, porém não fazem correlação entre ela e a gravidade da doença.

Já em relação à *E. Coli*, sua presença foi observada em 28,57% das amostras, quando inoculadas em meio CHROMagar orientation e, em 50% das amostras, quando inoculadas em meio EMB. Ambos os meios não são específicos para *E. coli*, porém apresentam boas condições para seu cultivo; sendo assim, podemos concluir que, apesar de não tão prevalente quanto o *Staphylococcus aureus*, a *E. coli* é um microrganismo que se demonstrou presente nas amostras em ambos os meios, não podendo ser desconsiderada na formulação de tratamentos para as diversas fases da doença periodontal. Tal achado coincide com os resultados obtidos por Braga et al. (2005) em seu estudo de isolamento e identificação da microbiota oral em cães da raça Pastor Alemão. Por outro lado, em sua avaliação das bactérias da D.P em cães e sua resposta a antibióticos, Fonseca et al. (2011) realizou duas coletas, uma em dia 0 e outra 15 dias após a administração de antibioticoterapia. Em seu estudo, observou-se que três animais, cujas amostras não demonstraram presença de *E. coli* na primeira coleta, apresentaram-na na segunda, o que o autor atribuiu a uma contaminação secundária por déficit imunitário dos animais. Tal hipótese pode ser aplicável ao presente estudo, dado que houve presença de *Staphylococcus aureus* em grande porcentagem das amostras, associados por Fonseca et al. (2011) a casos mais avançados da D.P, o que provocaria redução da imunidade dos animais afetados, desequilíbrio da microbiota natural da cavidade oral e, conseqüente, desenvolvimento de *E. coli*.

Considerando que no estudo de ambos os microrganismos supracitados, o cultivo das amostras no CHROMagar, apresentou resultados inferiores aos obtidos no cultivo das mesmas em outros meios – Baird-Parker e EMB – não pode ser descartada a hipótese que, por não ser um meio específico e pelos microrganismos não terem sido isolados, outras bactérias tenham inibido o crescimento do *Staphylococcus aureus* e da *E. coli* nas placas nas quais não foi observado seu crescimento.

Quanto ao *Streptococcus spp.*, 78,57% das amostras inoculadas em ágar sangue, demonstraram seu crescimento, o que confirma a importância desse microrganismo na formação de placa e cálculo dentário. Esse resultado vai de encontro os achados obtidos por Elliot et al. (2005), que ao isolar os gêneros bacterianos presentes nos dentes e saliva de cães, observou como os mais prevalentes: *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Granulicatella*, *Porphyromonas* e *Neisseria*; assim como de Fonseca et al. (2011), Pieri (2012) e Souza (2015).

Por fim, em 14,28% das amostras houve crescimento de *Candida spp.*, mais especificamente de *Candida tropicalis*. A presença desse microrganismo na microbiota oral do cão foi descrita por Mendes (2021) em seu estudo na proporção de 4,41% das 68 amostras coletadas da cavidade oral de cães com e sem lesões na mesma. Já Navarro (2016), descreveu a presença de leveduras do gênero *Candida spp.* em 86% de amostras da mucosa oral de cães em seu estudo e correlacionou maior prevalência das mesmas em cães que apresentavam D.P.

Tendo sido identificados os microrganismos presentes nas amostras coletadas para o estudo, passou-se para a segunda fase de testes, que buscava avaliar a eficácia do óleo de *Ocimum gratissimum*, assim como do ácido ferúlico – importante componente do extrato de própolis marrom – no combate à placa e ao cálculo dentário formado pelas bactérias identificadas. Tais compostos foram avaliados de acordo com os tratamentos descritos no Quadro 1 e os resultados obtidos foram descritos na Tabela 2.

**Tabela 2** – Diâmetros de halo produzidos pelos tratamentos testados em mm.

AMOSTRA	T.1	T.2	T.3	T.4	T.5	T.6	T.7
1	0	17	0	14	0	0	0
2	0	11	0	0	0	20	0
3	0	13	0	0	0	9	0
4	10	13	0	12	9	10	0
5	10	17	0	12	9	10	24
1	12	12	0	10	9	10	15
2	13	25	0	0	10	23	0
3	10	15	0	0	0	13	15
4	0	11	0	0	9	13	0
5	0	28	0	27	0	27	0
6	11	36	0	36	13	30	0
7	0	0	0	0	0	0	0
8	13	11	0	0	10	10	27
9	0	13	0	0	0	12	0

T.1 - Creme dental à base de própolis.

T.2 - Óleo de alfavaca + DMSO 20%.

T.3 - Ácido ferúlico.

T.4 - Creme dental à base de própolis (1) + óleo de alfavaca + DMSO 20% (2).

T.5 - Creme dental à base de própolis (1) + ácido ferúlico (3)

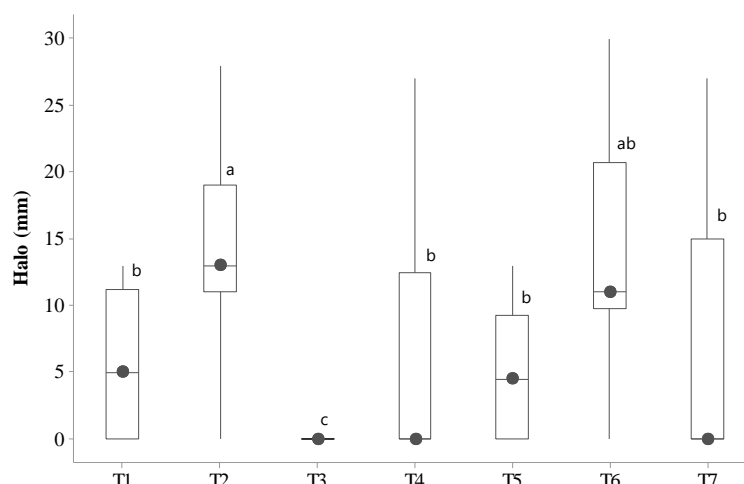
T.6 - Creme dental à base de própolis (1) + óleo de alfavaca + DMSO 20% (2) + ácido ferúlico (3)

T.7 - Clindamicina em disco (controle +).

Fonte: Arquivo pessoal (2022).

Para avaliar estatisticamente os dados obtidos no experimento, elaborou-se um gráfico bloxpot, Figura 1, que demonstra medianas, valores mínimos e máximos e atípicos de cada amostra (Valladares et al., 2017), e realizou-se o teste de Mann-Whitney, que é o mais apropriado para apontar diferenças entre os resultados obtidos em cada tratamento, dado que esses são dados não paramétricos (Rosner & Grover, 1999).

**Figura 1** – Gráfico boxplot dos resultados do teste de sensibilidade em ágar das amostras em relação aos tratamentos estudados



T.1 - Creme dental à base de própolis

T.2 - Óleo de alfavaca + DMSO 20%

T.3 - Ácido ferúlico

T.4 - Creme dental à base de própolis (1) + óleo de alfavaca + DMSO 20% (2)

T.5 - Creme dental à base de própolis (1) + ácido ferúlico (3)

T.6 - Creme dental à base de própolis (1) + óleo de alfavaca + DMSO 20% (2) + ácido ferúlico (3)

T.7 - Clindamicina em disco (controle +)

Tratamentos indicados por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Mann-Whitney ( $\alpha=0,05$ ).

Fonte: Arquivo pessoal (2022).

Se avaliarmos os compostos ativos isoladamente, o gráfico demonstra que o T.2 - óleo de alfavaca + DMSO 20% - teve superioridade de resultados, não só apresentando uma mediana superior a todos os outros tratamentos, mas também uma distribuição de 50% dos seus resultados superior a T.1, T.3, T.4, T.5 e T.7; e equivalente a T.6. Tal achado confirma as propriedades antimicrobianas das plantas do gênero *Ocimum* descritas por Politeo et al., (2007).

Já se avaliarmos a eficiência das associações testadas pelo experimento, o gráfico demonstra que T.6 - creme dental à base de própolis, óleo de alfavaca + DMSO 20% e ácido ferúlico – teve superioridade de resultados, não só apresentando uma mediana superior a todas as outras associações, mas também uma distribuição de 50% dos seus resultados superior a T.1, T.3, T.4, T.5 e T.7; e equivalente a T.2.

Sendo assim, pode-se dizer que T.2 e T.6 demonstraram-se os tratamentos mais eficientes no combate as bactérias da placa e cálculo dentário em cães dentre os estudados, porém não é possível concluir que um seja superior ao outro dado à similaridade dos resultados produzidos por eles.

#### 4. Considerações Finais

A doença periodontal é uma das afecções da cavidade oral mais prevalente nos cães, acometendo até 85% dos cães a partir de 3 anos de idade (Garcia et al., 2008). Dentre as diversas etiologias da doença, as principais são a placa e cálculo bacteriano, provocados por bactérias aeróbias e anaeróbias, gram positivas e negativas. A D.P produz inúmeros sinais clínicos, que variam com o grau de desenvolvimento da doença (Teixeira, 2016), e podem provocar alterações sistêmicas e redução de qualidade de vida para os animais acometidos (Santos, 2018). Porém, apesar apresentar sinais por vezes muito perceptíveis pelos tutores, como a halitose, o controle da D.P depende do controle da placa dentária, primordialmente pela escovação diária dos dentes dos cães (Gouveia, 2009). Dado que isso não é realizado pela maioria dos tutores, devido à falta de costume e/ou

dificuldade de instauração do hábito pela resistência dos cães ao processo, essa ainda é uma enfermidade mais tratada do que prevenida. Outro desafio se encontra nos produtos disponíveis no mercado para o controle da placa que, por si só não são eficazes e, muitas vezes, são agressivos à mucosa oral dos animais se utilizados a longo prazo (Pieri, Mussi, Fiorini & Schneedorf, 2010). Sendo assim, o presente estudo buscou nos extratos vegetais alternativas fitoterápicas para essa finalidade, testando a eficiência de óleo de *Ocimum gratissimum* e ácido ferúlico, principal composto de diversos extratos, como o de própolis marrom, no combate às bactérias da placa e cálculo dentário, associados ou não entre si e/ou a um gel já existente no mercado à base de própolis. Os resultados obtidos demonstraram que os tratamentos mais eficientes testados foram o óleo de *Ocimum gratissimum* + DMSO 20% e sua associação ao ácido ferúlico e gel à base de própolis.

Para próximos trabalhos na área, recomendamos a avaliação de diferentes concentrações de um mesmo composto antimicrobiano de atividade comprovada a fim de estabelecer-se a CMI do mesmo e, potencialmente, criar-se uma formulação que controle a placa dentária e cálculo em cães.

## Referências

- Braga, C. A. S. B., Resende C. M. F., Pestana, A. C. N. R., Carmo, L. S., Costa, J. E., Silva, L. A. F & Carvalho, M. A. R. (2005). Isolamento e identificação da microbiota periodontal de cães da raça Pastor Alemão. *Ciência Rural*, 35(2), 385-390.
- Campos, M., Freitas, N. L., & Gomes, D. E. (2019, 28 de outubro). Doença periodontal em cães – uma revisão. *Revista Científica*, 1(1), p. 13.
- Elliot, D. R., Wilson, M., Buckley, C. M. F. & Spratt, D. A. (2005). Cultivable Oral Microbiota of Domestic Dogs. *American Society of Microbiology*, 43(11), 5470-5476.
- Fonseca, S. A., Galera, P. D., Brito, D. L., Percemanis, S., Silva, A. S., Cardoso, L. B. & Pimentel, C. M. (2011). Análise microbiológica da placa bacteriana da doença periodontal em cães e o efeito da antibioticoterapia sobre ela. *Ciência Rural*, 41(8), 1424-1429.
- Garcia, C. Z., Fernandes, J. M., Jr., Almeida, M. F., Simas, R. C., Gimenez, T. F., Bermejo, V. J., & Dias, L. G. G. (2008, julho). Doença periodontal em cães. [http://www.researchgate.net/profile/Luis-Gustavo-Dias-2/publication/267545273\\_DOENCA\\_PERIODONTAL\\_EM\\_CAES/links/551936b30cf21b5da3b7db99/DOENCA-PERIODONTAL-EM-CAES.pdf](http://www.researchgate.net/profile/Luis-Gustavo-Dias-2/publication/267545273_DOENCA_PERIODONTAL_EM_CAES/links/551936b30cf21b5da3b7db99/DOENCA-PERIODONTAL-EM-CAES.pdf)
- Gouveia, A. I. E. A. (2009). *Doença periodontal no cão* (Dissertação de mestrado). Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal.
- Mendes, C. A. (2021). *Fatores de virulência in vitro de leveduras isoladas da cavidade oral em cães*. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.
- Michelin, D. C., Moreschi, P. E., Lima, A. C., Nascimento, G. G. F., Paganelli, M. O & Chaud, M. V. (2005). Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 15(4), 316-320.
- Navarro, B. S. (2016). *Fenótipos e perfis de sensibilidade aos antifúngicos de leveduras isoladas da mucosa oral de cães da cidade de Campinas, São Paulo* (Dissertação de mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- Niemic, B. A., Gawor, J., Nemeč, A., Clarke, D., Tutt, C., Gioso, M. & Stewart, K. (2020). *World Small Animal Veterinary Association. Global Dental Guidelines*. Recuperado de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jsap.13132>
- Picoli, T., Peter, C. M., Hoffmann, J. F., Latosinski, G. S., Zani, J. L., Vargas, G. D. & Fischer, G. (2016). Caracterização química e ação antibacteriana de extrato de própolis marrom da região sul do Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(4), 365-371.
- Ostrosky, E. A., Mizumoto, M. K., Lima, M. E. L., Kaneko, T. M., Nishikawa, S. O., & Freitas, B. R. (2008). Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(2), 301-307.
- Pieri, F. A. (2012) *Atividade antimicrobiana do óleo de copaíba (Copaifera langsdorffii) e seus constituintes, e avaliação do bioproduto obtido na inibição de bactérias da placa dental de cães (Tese de doutorado)*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Pieri, F. A., Mussi, M. C., Fiorini J.E., & Schneedorf, J. M. (2010). Efeitos clínicos e microbiológicos do óleo de copaiba (*Copaifera officinalis*) sobre as bactérias formadoras de placa dental em cães. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62(3), p. 8.
- Politeo, O., Jukic, M., & Milos, M. (2007). Chemical composition and antioxidante capacity of free volatile aglicones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. *Food Chemistry*, 101(1), p. 7.
- Rosner, B. & Grover, D. (1999). Use of the Mann-Whitney U-Test for clustered data. *Statistics in Medicine*, 18(11), 1387-1400.
- Santos, J. D. M. M. P. (2018). *Relação entre a doença periodontal e doenças sistêmicas bacterianas no cão: um estudo retrospectivo*. (Dissertação de Mestrado). Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.
- Santos, N. S. S., Carlos, R. S. A & Albuquerque, G. R. (2012). Doença periodontal em cães e gatos – revisão de literatura. *Revista Científica de Medicina Veterinária*, 10(32), 30-41.



Souza, A. L. M. (2015). *Caracterização anatomoclínica e microbiológica da doença periodontal em cães* (Dissertação de mestrado). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo dos Goytacazes, RJ.

Teixeira, P. M. (2016). *Doença periodontal em cães: nível de conhecimento dos proprietários acerca da doença e da sua profilaxia* (Dissertação de mestrado). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, Portugal.

Valladares, J. Neto, Santos, C. B., Torres, E. M., & Estrela, C. (2017). Boxplot: um recurso gráfico para análise e interpretação de gráficos qualitativos. *Revista Odontológica do Brasil Central*, 26(76), 1-6.