

Composição e atividade antimicrobiana do óleo essencial da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) com vistas ao uso como antimicrobiano para leitões desmamados

Composition and antimicrobial activity of essential oil of Brazilian red pepper (Schinus terebinthifolius Raddi) with a view to use as antimicrobial to weaning piglets

Antonio Diego Brandão Melo^[a], Franz Dias Gois^[b], Carla de Andrade^[c], Marcos Horácio Rostagno^[d], Leandro Batista Costa^[e]

^[a] Médico veterinário, mestrando em Ciência Animal, Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), São José dos Pinhais, PR – Brasil. E-mail: diegobmelo@hotmail.com

^[b] Zootecnista, doutorando em Ciência Animal, Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA – Brasil. E-mail: fdgois16@gmail.com

^[c] Zootecnista, pós-doutoranda em Ciência Animal, Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária, Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), São José dos Pinhais, PR – Brasil. E-mail: carlazoobr@yahoo.com.br

^[d] Phd, Adjunct Faculty at Purdue University, West Lafayette, IN - USA. Adjunct Faculty, Purdue University, West Lafayette, IN – USA. E-mail: rostagno@purdue.edu

^[e] Zootecnista, doutor em Ciência Animal e Pastagens, professor adjunto da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), São José dos Pinhais, PR – Brasil. E-mail: batista.leandro@pucpr.br

Resumo

O uso de antibióticos como melhoradores de desempenho nas rações animais foi banido da União Europeia em 2006, possivelmente devido ao desenvolvimento de resistência dos microrganismos aos antibióticos e à possibilidade de resistência cruzada no homem. A pressão para a remoção desses antibióticos das rações de suínos tem aumentado a busca por produtos alternativos que garantam máximo crescimento dos animais. Dentre os produtos alternativos destacam-se os óleos essenciais, os quais adicionados à dieta de leitões podem apresentar atividade antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória, mediante o efeito dos componentes químicos de cada óleo essencial. Diante disso, objetivou-se avaliar a composição química do óleo essencial da aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), além de investigar seu efeito antimicrobiano contra *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, visando a possível utilização do óleo essencial testado como aditivo na dieta de leitões recém-desmamados. Utilizou-se um cromatógrafo a gás com detector de massas para determinar a composição química do fruto da aroeira vermelha e o método de difusão em disco para investigar o efeito antimicrobiano do óleo essencial. Os compostos encontrados em maiores concentrações no fruto da aroeira vermelha foram o δ -careno (41,01%), α -felandreno (14,40%), limoneno (12,36%) e α -pineno (10,36%). O óleo essencial não demonstrou efeito antimicrobiano para as cepas testadas, possivelmente devido às baixas concentrações do α -pineno encontradas. Entretanto, estudos *in vivo* e *ex vivo* devem ser desenvolvidos



para avaliar a possível atuação do óleo essencial sobre a modulação do sistema imune e promoção da saúde intestinal em leitões recém-desmamados.

Palavras-chave: Cepas bacterianas. Cromatografia gasosa. Desmame. Difusão em disco. Leitões.

Abstract

*The use of antibiotics as performance enhancers was banned in the EU due to the possible development of resistance of microorganisms to antibiotics and the possibility of cross-resistance to human. The pressure for removal of antibiotic growth promoters in pig diets has increased the search for alternative products to ensure maximum animal growth performance. Among the alternative products, the essential oils, added to the diet of pigs, may have antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activity due the effect of the chemical components of each essential oil. Therefore, this study aimed to evaluate the chemical composition of the essential oil of red pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) fruit and to investigate its antimicrobial effect against *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis*. Trials were conducted aiming the future use of red pepper as an additive growth promoter in piglet's diet. Chemical composition of the essential oil of red pepper fruit was performed using gas chromatography coupled to a mass detection. Antimicrobial effect was determined by the disk diffusion method. The major compounds found in the red pepper essential oil were δ -carene (41.01%), α -phellandrene (14.40%), limonene (12.36%), and α -pinene (10.36%). The essential oil showed no antimicrobial effect against the strains tested by disk diffusion. However, studies should be developed to evaluate the performance of the red pepper essential oil on modulation of the immune system and promotion of intestinal health in weaning piglets.*

Keywords: Bacterial strains. Disk diffusion. Gas chromatography. Piglets. Weaning.

Introdução

O período de desmame dos leitões é considerado a fase mais crítica dentro do sistema de produção de suínos. Em muitos casos, o desmame está associado à proliferação e ao crescimento de micro-organismos patogênicos no trato gastrintestinal, à atrofia das vilosidades intestinais, ao aumento na incidência de diarreia, ao baixo consumo de ração, à reduzida taxa de crescimento e ao aumento da mortalidade dos animais (HEO et al., 2013). Esses efeitos estão associados à imaturidade fisiológica do sistema digestório com limitada capacidade de secreção de ácido clorídrico no estômago e insuficiente produção e atividade das enzimas pancreáticas e intestinais, resultando em reduzida digestão da dieta sólida e absorção de nutrientes (COSTA et al., 2007; LÁLLES et al., 2007). Estes distúrbios podem ser acentuados pelo estresse social (perda do contato entre leitão e a matriz, formação de novos lotes e estabelecimento de uma nova hierarquia), ambiental

(instalações diferentes daquelas nas quais permaneciam) e imunológico (a imunidade ativa está em desenvolvimento e a imunidade passiva é limitada), comprometendo o desempenho dos leitões (DONG; PLUSKE, 2007).

Na tentativa de minimizar os desafios impostos aos leitões no pós-desmame, faz-se uso de antibióticos como melhoradores de desempenho. No entanto, diante do desenvolvimento de resistência dos microrganismos aos antibióticos utilizados como melhoradores de desempenho, e da possibilidade de resistência cruzada no homem, alguns países, principalmente os da União Europeia, passaram a exigir a sua completa retirada da nutrição animal. Para que o Brasil continue exportando carne suína e amplie ainda mais seu mercado externo, principalmente o europeu, pesquisas têm sido conduzidas visando à utilização de outros aditivos ou ingredientes que possam estimular o crescimento dos leitões na fase pós-desmame, sem que haja redução

no desempenho. Diante disso, a utilização de plantas nativas na forma de extratos ou óleos essenciais deve ser explorada, uma vez que apresentam propriedades *in vitro* que podem exercer um potencial efeito benéfico em testes *in vivo*. Dentre as plantas nativas, tem sido estudada a aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi, *Anacardiaceae*), com resultados satisfatórios *in vitro*. É uma árvore perene, nativa da costa do Brasil, que foi introduzida em países da América do Sul e Central, podendo ser encontrada também em regiões tropicais e subtropicais da América do Norte, do continente Africano e em parte da Europa Mediterrânea e do Sul da Ásia. Apresenta muitos nomes populares incluindo aroeira, aroeira da praia, aroeira pimenteira, pimenta brasileira, aroeira mansa, pimenta rosa, *Florida holly*, *christmas-berry*, *poivre rose*, dentre outros (AFFONSO et al., 2012; BARBOSA et al., 2007).

Algumas propriedades terapêuticas têm sido atribuídas à aroeira vermelha, como o efeito antioxidante (BENDAOU et al., 2010; BERNARDES, et al., 2011), cicatrizante (LUCENA et al., 2006), antitumoral (MATSUO et al., 2011), antimicrobiano (LIMA et al., 2006), antifúngico (JOHANN et al., 2010), anti-inflamatório (RIBAS et al., 2006; SOARES et al., 2010) e inseticida (KWEKA et al., 2011). Diante disso, objetivou-se identificar a composição química do óleo essencial da aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), além de investigar seu efeito antimicrobiano contra cepas bacterianas de importância econômica para a cadeia produtiva de suínos, visando a possível utilização do óleo essencial como aditivo na dieta de leitões recém-desmamados.

Material e métodos

Composição do óleo essencial da aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi)

O óleo essencial da aroeira vermelha foi adquirido da empresa AgroRosa Ltda. (São Mateus, ES, Brasil). Os frutos maduros foram desidratados e selecionados pela empresa, seguindo sua menor densidade e coloração vermelha. A composição do óleo essencial do fruto da aroeira vermelha foi determinada utilizando um Cromatógrafo gasoso (6890N, Agilent Technologies, USA) com detector de massas (5973, Agilent Technologies, USA), equipado com

uma coluna de sílica DB-5MS (60mm x 0,32mm x 1,0µm) nas seguintes condições cromatográficas: temperatura inicial de 40 °C mantida por 5 minutos, aumentando em 4 °C por minuto até atingir 300 °C, em que permaneceu por 10 minutos. As temperaturas do injetor e detector foram programadas para 250 °C e 280 °C, respectivamente. As vazões dos gases foram de 40 mL/min para o hidrogênio, 45 mL/min para o hélio e 450 mL/min para o ar sintético. O Split foi de 1:20, o fluxo de 3,0 mL/min e o modo foi SCAN. Calculou-se a composição a partir das áreas dos picos dos componentes. A identificação foi confirmada pelo uso de compostos padrão disponíveis na biblioteca utilizada (Givaudan Ltda., São Paulo, SP, Brasil).

Atividade antimicrobiana do óleo essencial da aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi)

A atividade antimicrobiana do óleo essencial dos frutos da aroeira vermelha foi investigada contra *Salmonella* Typhimurium (ATCC 13311), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). As cepas bacterianas foram adquiridas da *American Type Culture Collection* (Rockville, MD, USA). O método utilizado para determinar a atividade antimicrobiana para cada cepa bacteriana foi o teste de difusão em disco em meio ágar Muller-Hinton (MHA, BDC, Franklin Lakes, New Jersey, USA). Com o auxílio de um *swab* estéril, cada cepa bacteriana, em concentração de 1×10^7 UFC/mL, foi inoculada sobre o ágar em placas de Petri, formando um “tapete” bacteriano. Os discos de papel de 6 mm foram alocados sobre o “tapete” bacteriano com o auxílio de uma pinça estéril e, sobre cada disco de papel, foi adicionado 20 µl do óleo essencial da aroeira vermelha a 100% de concentração. Sobre um dos discos de papel adicionou-se água ultra pura como controle negativo, procedimento realizado com três repetições para cada cepa bacteriana. Em seguida, as placas foram incubadas por 24 horas a 37 °C. Após o período de incubação, mediu-se o diâmetro do halo de inibição formado ao redor do disco de papel. A atividade antimicrobiana do óleo essencial da aroeira vermelha foi determinada pelo tamanho dos halos de inibição formados sob o disco, usando como referência a classificação de sensibilidade das cepas bacterianas segundo

Moreira et al. (2005): não sensíveis para diâmetros menores que 8 mm; sensíveis para diâmetros entre 9 e 14 mm; muito sensíveis para diâmetros entre 15 e 19 mm e extremamente sensíveis para diâmetros acima de 20 mm.

Resultados e discussões

As concentrações percentuais dos principais constituintes obtidos do óleo essencial dos frutos da aroeira vermelha encontram-se na Tabela 1. No presente trabalho, os maiores componentes encontrados no óleo da aroeira vermelha foram o δ -careno (41,01%), α -felandreno (14,40%), limoneno (12,36%) e α -pineno (10,36%). Silva et al. (2010) encontraram como constituintes majoritários do óleo da aroeira o α -pineno (29,39%), δ -careno (19,69%) e limoneno (18,15%). Em outro estudo, o α -pineno (41,17%), δ -cadineno (10,21%) e D-germacreno (8,56%) foram os maiores constituintes encontrados nos frutos verdes da aroeira vermelha, enquanto que o mirceno (48,15%), o D-germacreno (7,86%), o δ -cadineno (6,43%) e o α -pineno (5,14%) foram os compostos encontrados nos frutos maduros (DOURADO, 2012). Bendaoud et al. (2010) encontraram em frutos maduros, originários do Sul da Tunísia, o α -felandreno (34,38%), γ -cadineno (18,04%), β -felandreno (10,61%), p-cimeno (7,34%), α -pineno (6,49%), α -terpineol (5,60%) e β -pineno (3,09%) como os maiores componentes. Embora exista similaridade entre os componentes presentes no óleo da aroeira vermelha nos trabalhos acima citados, há grande variação nas suas proporções. As diferentes proporções entre os componentes observados podem ser, possivelmente, devido à sazonalidade, ao ritmo circadiano, ao estado de maturação e desenvolvimento da planta, além da disponibilidade hídrica, temperatura, nutrientes disponíveis, altitude, poluição atmosférica e indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

As cepas bacterianas testadas no presente experimento não foram sensíveis ao óleo dos frutos da aroeira vermelha (diâmetros dos halos de inibição menores que 8 mm) e, dessa forma, o óleo não apresentou atividade antimicrobiana avaliada pelo método de difusão em disco. Entretanto, o óleo da aroeira vermelha utilizado por Dourado

Tabela 1 - Concentrações percentuais dos principais constituintes presentes no óleo essencial dos frutos da aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa

Composto	Concentração (%)
delta-3-careno	41,01
alpha-felandreno	14,40
Limoneno	12,36
alpha-pineno	10,36
beta-pineno	3,89
p-cimeno	2,88
Mirceno	2,77
beta-felandreno	2,42
Sabineno	1,97
Terpinolene	1,14
beta-cariofileno	0,79
D-germacreno	0,62
alpha-elemol	0,44
alpha-tujeno	0,43
delta-cadineno	0,43
gamma-terpineno	0,42
Outros compostos	3,67
Total	100,00

Fonte: Dados da pesquisa.

(2012) mostrou atividade antimicrobiana frente a um amplo espectro de cepas patogênicas como *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. Além disso, Costa et al. (2010) observaram efeito antimicrobiano do óleo essencial de aroeira contra *Enterococcus faecalis*. Uma das razões para o resultado obtido no presente estudo poderia estar relacionada à natureza química (hidrofóbica ou lipofílica) dos compostos, que pode não permitir a difusão uniforme do óleo essencial através do ágar, reduzindo seu efeito antimicrobiano. Além disso, o teste de difusão em disco sobre o ágar permite que haja volatilização dos compostos presentes no óleo essencial reduzindo seu efeito antimicrobiano (ROSS et al., 2001).

Outros fatores importantes, como a concentração dos componentes principais (AO et al., 2011) e os mecanismos e protocolos de extração, (BARBOSA et al., 2007) podem ser primordiais para a discrepância entre os resultados encontrados na

literatura para atividade antimicrobiana. As propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais estão associadas à composição química, à proporção dos compostos, além do efeito sinérgico entre os componentes. Altos teores de hidrocarbonetos, em especial o α -pineno estão relacionados com a atividade antimicrobiana do óleo da aroeira vermelha (CEZAROTTO, 2009). O óleo testado no presente experimento apresentou 10,36% de α -pineno, enquanto 29,39% de α -pineno foi encontrado por Silva et al. (2010). No entanto, a proporção dos compostos presentes nos óleos pode variar de acordo com o estado de maturação do fruto. Essas variações podem ser observadas nas diferentes concentrações do α -pineno nos óleos da aroeira vermelha encontrados na literatura, em que frutos verdes apresentaram 41,17% de α -pineno (DOURADO, 2012), enquanto que proporções de apenas 5,14% (DOURADO, 2012) e 6,49% (BENDAOU, et al., 2010) de α -pineno foram apresentadas em frutos maduros. Considerando a relação entre a atividade antimicrobiana do óleo essencial e os teores de α -pineno, maiores halos de inibição foram observados por Dourado (2012) para o óleo essencial de frutos verdes da aroeira vermelha (α -pineno 41,17%) comparados aos frutos maduros (α -pineno 5,14%). Dessa forma, possivelmente a diferença na concentração desse composto pode ter influenciado na ausência de atividade antimicrobiana do óleo essencial observado no presente estudo.

Efeitos benéficos do uso do óleo essencial da aroeira vermelha, além da atividade antimicrobiana, têm sido relatados, tais como efeito antioxidante (BENDAOU, et al., 2010; BERNARDES, et al., 2011), cicatrizante (LUCENA et al., 2006) e anti-inflamatório (RIBAS et al., 2006; SOARES et al., 2010). Mediante tais efeitos benéficos encontrados na literatura, experimentos *ex vivo* e *in vivo* deverão ser conduzidos visando a investigação do uso do óleo essencial da aroeira vermelha sobre a modulação do sistema imune, a redução de processos inflamatórios intestinais e, conseqüentemente, sobre a saúde intestinal. Além disso, o melhor conhecimento sobre os seus modos de ação, quantidade a ser incluída nas rações, compostos ativos e forma de isolamento são fundamentais para sua utilização em experimentos *in vivo*.

Conclusão

O óleo essencial de aroeira vermelha não apresenta atividade antimicrobiana para as cepas testadas pelo método de difusão em disco. Entretanto, os relatos de literatura de outros efeitos benéficos do óleo de aroeira, como os efeitos antioxidante, anti-inflamatório e cicatrizante, podem estimular a realização de pesquisas sobre a sua atuação na modulação do sistema imune, a redução de processos inflamatórios e a promoção de saúde intestinal em suínos.

Referências

- AFFONSO, C. R. G. et al. Effects of the essential oil from fruits of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) on reproductive functions in male rats. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 1, p. 180-185, 2012. doi:10.1590/S0103-50532012000100025.
- AO, X. et al. Effects of *Saururus chinensis* extract supplementation on growth performance, meat quality and slurry noxious gas emission in finishing pigs. **Livestock Science**, v. 138, n. 1-3, p. 187-192, 2011. doi:10.1016/j.livsci.2010.12.029
- BARBOSA, L. C. A. et al. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1959-1965, 2007. doi:10.1590/S0100-40422007000800030.
- BENDAOU, H. et al. Chemical composition and anti-cancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi berries essential oils. **Journal of Food Science**, v.75, n.6, p. C466-472, 2010. doi:10.1111/j.1750-3841.2010.01711.x.
- BERNARDES, N. R. et al. Quantificação dos teores de taninos e fenóis totais e avaliação da atividade antioxidante dos frutos de aroeira. **Vértices**, v. 13, n. 3, p. 117-128, 2011. doi:10.5935/1809-2667.20110028.
- CEZAROTTO, V. S. **Influência da sazonalidade nos constituintes químicos, atividade antimicrobiana e antioxidante das partes aéreas de *Baccharis articulata* (Lam) Pers e *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C.** 2009, 113 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica), Universidade de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

- COSTA, L. B. et al. Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 3, p. 589-595, 2007. doi:10.1590/S1516-35982007000300011.
- COSTA, E. M. M. B. et al. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 3, p.175-180, 2010. doi:10.1590/S1676-24442010000300004.
- DONG, G. Z.; PLUSKE, J. R. The low feed intake in newly-weaned pigs: problems and possible solutions. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 20, n. 3, p. 440-453, 2007.
- DOURADO, M. T. Óleos essenciais e oleoresina da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi): propriedades químicas e biológicas. 2012. 120 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007. doi:10.1590/S0100-40422007000200026.
- HEO, J. M. et al. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 97, n. 2, p. 207-237, 2013. doi:10.1111/j.1439-0396.2012.01284.x.
- JOHANN, S. et al. Antifungal activity of schinol and a new biphenyl compound isolated from *Schinus terebinthifolius* against the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 9, n. 30, p. 1-6, 2010. doi:10.1186/1476-0711-9-30
- KWEKA, E. J. et al. Insecticidal activity of the essential oil from fruits and seeds of *Schinus terebinthifolia* Raddi against African malaria vectors. **Parasites & Vectors**, v. 4, n. 129, p. 1-10, 2011. doi:10.1186/1756-3305-4-129.
- LALLÈS, J-P. et al. Weaning - A challenge to gut physiologists. **Livestock Science**, v. 108, n. 1-3, p. 82-93, 2007. doi:10.1016/j.livsci.2007.01.091
- LIMA, M. R. F. et al. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, n. 1-2, p. 137-147, 2006. doi:10.1016/j.jep.2005.10.026
- LUCENA, P. L. H. et al. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, supl. 2, p. 46-51, 2006. doi:10.1590/S0102-86502006000800008.
- MATSUO, A. L. et al. α -Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 411, n.2, p.449-454, 2011. doi:10.1016/j.bbrc.2011.06.176
- MOREIRA, M. R. et al. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, n. 5, p. 565-570, 2005. doi:10.1016/j.lwt.2004.07.012.
- RIBAS, M. O. et al. Efeito da *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato. **Revista Odontologia**, v. 21, n. 53, p. 245-252, 2006.
- ROSS, Z. et al. Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 1, p. 475-480, 2001. doi:10.1128/AEM.67.1.475-480.2001.
- SILVA, M. A. et al. Uso de óleo de aroeira vermelha sobre o desempenho e a morfometria intestinal de frangos de corte. **Ciência Rural**, v.40, n.10, p.2151-2156, 2010. doi:10.1590/S0103-84782010005000160.
- SOARES, D. G. D. S. Avaliação Clínica e Microbiológica do Tratamento da Estomatite Protética com Tintura de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira). **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 10, n. 3, p. 365-370, 2010. doi:10.4034/1519.0501.2010.0103.0006.

Recebido em: 03/10/2014
Received in: 10/03/2014

Aprovado em: 15/12/2014
Approved in: 12/15/2014