

Potencial antimicrobiano do extrato etanólico da casca de *Stryphnodendron barbatiman* mart. frente micro-organismos de interesse médico-odontológico

Potencial antimicrobiano de *S. barbatiman*

João Paulo Cristovam Leite dos Santos¹

Tel.: (87) 9 9910-2586

Email: joao_cristovam@hotmail.com

Isaias Clécio Mauricio dos Santos¹

Tel.: (87) 9 9632-9578

Email: isaiascleciomrc@hotmail.com

Patrícia Lins Azevedo do Nascimento¹

Tel.: (87) 9 9628-2909

Email: patricianascimento@asces.edu.br

¹Laboratório de Biofotônica e Materiais Aplicados à Saúde, Curso de Odontologia, Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), Caruaru, PE, Brasil.

Autor para correspondência:

Patrícia Lins Azevedo do Nascimento

Email: patricianascimento@asces.edu.br

RESUMO

Objetivo: O presente estudo avaliou o potencial antimicrobiano do extrato etanólico da casca do tronco de *Stryphnodendron barbatiman* Mart. frente micro-organismos de interesse médico-odontológico.

Metodologia: Placas de 96 poços foram utilizadas para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do extrato etanólico da casca de *Stryphnodendron barbatiman* Mart, frente 25 micro-organismos (bactérias, leveduras e culturas mistas de cavidade oral). Uma solução estoque do extrato etanólico de *S. barbatiman* foi preparada com DMSO e água (1:1) e as diluições feitas com água. As concentrações testadas variaram de 500 a 31,5 µg/mL. Cem microlitros de extrato foram pipetados nos poços da microplaca junto com 10 µL de inóculo padronizado e 90 µL de meio de cultura. Os testes foram realizados em triplicata. A CIM foi definida como a menor concentração que inibiu o crescimento bacteriano. Foi pipetado 30 µL de resazurina 0,02% em todos os poços e após 2 horas de incubação observou-se quais os poços que apresentaram inibição de crescimento microbiano. Subculturas dos poços que não apresentaram crescimento foram feitas em placas de Petri contendo meio de cultura sólido. Ampicilina, itraconazol e clorexidina foram utilizados como controle positivo. Após

24 horas observou-se o potencial antimicrobiano da concentração identificada como a menor que inibiu o crescimento microbiano.

Resultados: O extrato etanólico da casca do *Stryphnodendron barbatiman* Mart. inibiu o crescimento de todos os micro-organismos testados com valores de concentração inibitória mínima que variaram de 250 µg/mL a 62 µg/mL.

Conclusão: Diante do estudo realizado, torna-se viável aprimorar os resultados obtidos, visto que, o extrato do Barbatimão possui um excelente potencial antimicrobiano.

Palavras-chave: *Stryphnodendron barbatiman*, Microbiologia, Anti-Infeciosos, Produtos biológicos.

1. Introdução

Os fitoterápicos são medicamentos constituídos por uma ou mais substâncias extraídas de plantas e são utilizadas de diferentes formas para diversas patologias^[1]. Nos últimos anos os fitoterápicos aparecem cada vez mais como uma alternativa aos medicamentos tradicionais, tanto na área da medicina como também na odontologia^[2].

Na odontologia os estudos utilizando substâncias advindas de plantas foram mais a fundo nos últimos anos com o intuito de obter medicamentos com uma baixa toxicidade e efeitos positivos para tratamento de doenças bucais ou até mesmo para doenças sistêmicas^[3].

Uma das áreas da Odontologia onde há indicação de antimicrobianos é na prática clínica endodôntica, onde a utilização de uma medicação intracanal com ação antimicrobiana torna-se necessária para potencializar a desinfecção do sistema de canais radiculares^[4,5].

Stryphnodendron barbatiman Mart. popularmente conhecida como barbatimão é uma planta rica em substâncias medicinais, facilmente encontrada nas regiões secas do Brasil^[3]. Estudos demonstram que o extrato da casca localizada no tronco da árvore é extremamente eficiente para tratamento anti-inflamatório,

antimicrobiano, analgésico e proteção da mucosa gástrica^[6,7,8].

O extrato etanólico da casca do *Stryphnodendron barbatiman* Mart. apresenta diversas substâncias de interesse clínico, porém esta planta possui um diferencial que é a alta concentração de taninos, substância esta que é responsável por várias propriedades medicinais da planta além de possuir também alcaloides, amido, flavonoides, pró-antocianidinas, matérias resinosas, mucilaginosas, corantes e saponinas^[9,10].

Taninos são fenólicos (antioxidante) solúveis em água formando complexos insolúveis em diversas outras substâncias como a água com alcaloides e gelatinas^[10]. Estes são os principais responsáveis pelas propriedades do Barbatimão, isso se explica em suas substâncias que apresentam três propriedades gerais, que são: a geração de complexos com íons metálicos, atividade antioxidante e retenção de radicais livres e a capacidade de formar complexos com outras moléculas como os polissacarídeos e proteínas^[11,12].

Diversos autores demonstram atividade antimicrobiana do barbatimão, com intuito de inibir o desenvolvimento de microrganismos. A maior parte dos trabalhos que confirmam a atividade antimicrobiana do

barbatimão tem sido realizada com cascas, folhas e raízes^[9,13,14,15,16].

Devido ao aumento crescente da resistência bacteriana frente aos antibióticos disponíveis no mercado e baseado nas atividades antimicrobianas de extratos de plantas encontradas na literatura. Considerando a importância medicinal do extrato etanólico da casca do tronco de *Stryphnodendron barbatiman* Mart. este estudo tornou-se indispensável no teste da sua atividade antimicrobiana diante de diversos micro-organismos de interesse médico odontológico.

2. Materiais e Métodos

2.1 Material vegetal

As cascas do tronco de *Stryphnodendron barbatiman* Mart. foram coletados na zona rural de Pesqueira, cidade localizada à 219,2 km de Recife, região agreste do estado de Pernambuco. As cascas foram secas a 40 °C em estufa com circulação de ar por 48 horas, trituradas em moinho e estocadas a -20 °C até o material ser utilizado.

2.2 Reagentes

Caldo triptona de soja – TSB (Acumedia, Lansing, EUA), caldo Müller-Hinton (HIMEDIA, Mumbai, Índia),

dimetil sulfóxido (FMaia, Cotia, Brasil) e resazurina (Sigma-Aldrich, EUA).

2.3 Preparação do extrato

O extrato etanólico das cascas do tronco *Stryphnodendron barbatiman* Mart. foi obtido por imersão repetida sob agitação em etanol P.A. a uma proporção de 1:10, até o esgotamento de substâncias extraíveis pelo álcool etílico. Para a concentração do extrato, o etanol foi removido do filtrado utilizando um evaporador rotativo a 40 ° C sob pressão reduzida.

2.4 Micro-organismos

As cepas de micro-organismos utilizadas foram: uma bactéria Gram positiva (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) e três Gram negativas (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 29665 e *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416), foram cedidas pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA); seis leveduras (*Candida albicans* (URM 6547), *Candida krusei* (URM 5840), *Candida famata* (URM 7085), *Candida tropicalis* (URM 6947), *Candida guilliermondii* (URM 5936) e *Candida parapsilosis* (URM 6405)) cedidas pela Micoteca da Universidade Federal de Pernambuco (URM/UFPE) e 15 culturas mistas de cavidade oral, cedidas pelo Laboratório de Bioativos da UAG/UFRPE.

2.5 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

Para a determinação da CIM foi realizado o método de microdiluição em caldo^[17], utilizando para isto, placas de microtitulação 96 poços. As concentrações do extrato que foram testadas variaram de 500 µg/mL a 31,25 µg/mL. As microplacas foram preparadas dispensando-se em cada poço, 100 µL de cada concentração da amostra, 90 µL de caldo Müller Hinton (para as bactérias e culturas mistas) ou caldo sabouraud para as leveduras e 10 µL do inóculo padronizado com a turbidez 0,5 da escala de Mac Farland. Posteriormente incubadas a 37 °C por 24 horas (para as bactérias e culturas mistas) e 30 °C por 48 horas para as leveduras. Após o período de incubação, 30 µL de resazurina em solução aquosa na concentração de 0,02% foram acrescentados nos poços e a microplaca retornou para a estufa bacteriológica a 37 °C ou 30 °C por mais duas horas. Tal substância é um indicador de óxido-redução, utilizado para revelar alteração de pH no meio determinado pelo crescimento do micro-organismo^[18]. Os poços que adquiriram uma coloração rosada indicaram a reação química de óxido-redução da resazurina em resorfurina sendo interpretada como presença de células viáveis, enquanto que nos

poços onde não houve mudança na coloração do corante interpreta-se como ausência de células viáveis, indicando inibição do crescimento celular pelo extrato. A concentração inibitória mínima foi definida como a menor concentração da droga que inibe o crescimento visível de um organismo após um período de incubação [19].

Para determinação do potencial antimicrobiano do extrato, retirou-se 10 µL dos poços que após a revelação com resazurina, apresentaram a cor azul e inoculou-se em placas de Petri com meio de cultura sólido para identificar se haveria ou não crescimento de unidades formadoras de colônia nestas subculturas livres de antimicrobiano, classificando a ação do extrato frente àquele micro-organismo em bactericida/fungicida ou bacteriostático/fungistático.

Como controle positivo foram utilizadas Ampicilina (25 mg/mL) para inibição do crescimento de bactérias, itraconazol (25 µg/mL) para inibição de crescimento de Leveduras e para a inibição dos micro-organismos da cavidade oral foi utilizado digluconato de clorexidina 2%.

Esta pesquisa tem aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Tabosa de Almeida ASCES-UNITA sob o CAAE 63174116.7.0000.5203.

3. RESULTADOS

Foram realizados vinte e cinco testes utilizando o extrato de *Stryphnodendron barbatiman* Mart. frente quatro bactérias, seis leveduras e quinze culturas mistas de cavidade oral. Houve inibição do crescimento de todos os micro-organismos em concentrações que variaram de 250 a 62,5 µg/mL. Todos os micro-organismos foram inibidos pelos antimicrobianos utilizados como controle. Os valores encontrados de concentração inibitória mínima, assim como o potencial antimicrobiano do extrato frente os micro-organismos testados são demonstrados na Tabela 1.

* A tabela 1 deve ser inserida aqui.

4. DISCUSSÃO

Nos últimos anos empresas e pesquisadores de diferentes áreas, assim como uma boa parcela da população em geral vem demonstrando um grande interesse no uso de medicamentos fitoterápicos como uma forma alternativa para o tratamento de diversas enfermidades, tanto pelo fato de apresentarem menor risco de efeitos adversos, como também pelo fato de na maioria das vezes apresentarem um custo mais acessível para os pacientes^[14].

Dentre as mais diversas plantas de interesse medico odontológico uma que se destaca por suas

propriedades terapêuticas é o *Stryphnodendron barbatiman* Mart. conhecida popularmente como Barbatimão^[20]. Vários autores avaliaram as propriedades terapêuticas do *S. barbatiman* e identificaram atividades como antisséptico, anti-inflamatório, hemostático, anti-edematogênico, antioxidante, antidiabético, adstringente, anti-hipertensivo, analgésico, cicatrizante e antimicrobiano e no tratamento de várias infecções cutâneas^[6,21,22,23].

Acredita-se que os efeitos medicinais do barbatimão são provenientes do elevado teor de taninos em sua composição química, podendo atingir níveis de 20% a 50%^[15]. A Farmacopeia Brasileira afirma que a quantidade mínima de taninos para utilização medicinal é de 8%^[16]. Entretanto, estes níveis de taninos variam de acordo com a espécie, localização geográfica e parte da planta que foi empregada no extrato^[24]. O extrato utilizado neste estudo é oriundo do agreste pernambucano, especificamente da zona rural da cidade de Pesqueira.

Em um estudo realizado por Pinho e colaboradores (2012)^[25], os extratos alcóolicos obtidos das folhas do *Stryphnodendron barbatiman* Mart. continham metabólitos secundários com potencial antimicrobiano e conseguiram inibir o crescimento de *S.*

aureus. Apesar disso, não foi detectada atividade desse extrato frente a *E. coli*, podendo estar relacionado à menor susceptibilidade das bactérias Gram-negativas a extratos vegetais. Geralmente, devido à sua membrana externa extra protetora e a outras características particulares, as bactérias Gram-negativas são consideravelmente mais resistentes aos agentes antibacterianos do que bactérias Gram-positivas [26]. No entanto, neste estudo, não houve diferença entre a CIM encontrada para a bactéria Gram positiva e as Gram negativas (250 µg/mL).

No estudo realizado por Souza (2007)^[27] foi avaliada a atividade antisséptica de extrato seco das cascas do barbatimão, em relação a duas bactérias Gram-positivas e uma Gram-negativa, sendo elas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli* o mesmo obteve resultados positivos de inibição de crescimento. Neste estudo foi utilizado o extrato etanólico da casca do Barbatimão onde foi observado potencial bacteriostático frente a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Hasenack e colaboradores (2008)^[28] viram que a análise fitoquímica da casca de barbatimão evidenciou a presença de substâncias que inibiram o desenvolvimento de micro-organismos, estas substâncias foram os taninos

condensados e hidrolisáveis, grande quantidade de saponinas, flavonoides, polissacarídeos complexos e alcaloides. Através dessas substâncias o autor conseguiu um potencial bactericida do extrato alcoólico da casca do barbatimão frente 7 cepas distintas de *S. Aureus*. Sabendo que o presente estudo utilizou a mesma parte da planta, foi visto que o mesmo obteve um potencial bacteriostático frente *S. Aureus*.

Ferreira et al. (2009)^[29] constataram presença de atividade antimicrobiana *Stryphnodendron barbatiman* Mart. frente a *S. aureus*. Neste estudo foi avaliada a inibição de crescimento microbiano em 8 cepas de *S. aureus* expostas ao extrato etanólico de barbatimão em diferentes concentrações, o extrato teve efeito bacteriostático, na concentração inibitória mínima de 250 µg/mL, assemelhando-se o efeito bacteriostático e a concentração inibitória mínima encontrada no presente estudo.

No estudo realizado por Soares e colaboradores (2008)^[30], foi identificada atividade antibacteriana do extrato etanólico do Barbatimão diante de bactérias da cárie dental, onde os melhores resultados foram frente *S. mitis* e *L. casei* (350 µg/mL). Já nesta pesquisa foi identificada ação bacteriostática do extrato etanólico do barbatimão frente 15 culturas mistas da cavidade oral,

com concentrações que variaram de 62,5 a 250 µg/mL. Para a cavidade oral, uma solução com atividade bacteriostática se torna bastante interessante por não promover um desequilíbrio da sua microbiota.

Os valores de CIM obtidos neste estudo atendem aos rigorosos critérios de potencial antimicrobiano de produtos naturais adotados por alguns autores^[32,33], que consideram concentrações de até 1 mg/mL para extratos ou 0,1 mg/mL para compostos isolados ao exibir atividades antimicrobianas.

5. CONCLUSÃO

Comprovou-se a atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca do tronco de *Stryphnodendron barbatiman* Mart. frente bactérias, leveduras e culturas mistas de cavidade oral. A excelente atividade antimicrobiana do extrato da casca desta planta pode estar relacionada aos metabólitos secundários derivados da classe de taninos, que são os principais constituintes desta droga vegetal, de acordo com a literatura. Mais estudos sobre toxicidade serão realizados a fim de que sejam desenvolvidas pesquisas *in vivo* com soluções fitoterápicas a base de barbatimão para controle microbiano da cavidade oral.

REFERÊNCIAS

- [1] Costa PS et al. Atividade antimicrobiana e potencial terapêutico do gênero *Lippia sensu lato* (Verbenaceae). *Hoehnea* 2017; **44**:158-171.
- [2] Oliveira, FQ et al. Espécies vegetais indicadas na odontologia. *Rev Bras Farmacogn* 2013; **17**: 466-476.
- [3] Pereira C, Moreno CS, Carvalho C. Usos Farmacológicos do *Stryphnodendron Adstringens* (Mar.)–Barbatimão. *Rev Panorâmica* 2013; **15**: 127-137.
- [4] Rocha EALS et al. Potencial antimicrobiano de seis plantas do semiárido paraibano contra bactérias relacionadas à infecção endodôntica. *Rev de Ciên Farm Básica e Aplicada* 2013; **34**: 351-355.
- [5] Vieira DRP et al. Plantas e constituintes químicos empregados em Odontologia: revisão de estudos etnofarmacológicos e de avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* em patógenos orais. *Rev. Bras. Plantas Med* 2014; **16**: 135-167.
- [6] Fonseca P, Librandi APL. Avaliação das características físico-químicas e fitoquímicas

de diferentes tinturas de Barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*). *Rev Bras de Cienc Farm* 2008; **44**: 271-277.

[7] Costa PS et al. Antimicrobial activity and therapeutic potential of the genus *Lippia sensu lato* (Verbenaceae). *Hoehnea* 2017; **44**: 158-171.

[8] Eller SCWS et al. Avaliação antimicrobiana de extratos vegetais e possível interação farmacológica *in vitro*. *J of Basic and Appl Pharm Scie* 2015; **36**: 131-136.

[9] Pereira FS et al. *In vitro* antimicrobial activity of ginger, propolis, coffee and Barbatimao extracts on *Enterococcus faecalis*. *BJSCR* 2017; **19**: 06-09.

[10] Santos TCJ, Santana LCLA. Potencial antimicrobiano de diferentes extratos da casca de Mirtilo (*Vaccinium myrtillus*). *International Symposium on technological innovation* 2016; **3**: 247-251.

[11] Oliveira SS, Vanzeler MLA. Evaluation of effects of metabolic extract of *Stryphnodendrom tightens* (Mart) Coville for gavagem in the ciclo estral of female rats. *Rev Eletr de Farmácia* 2001; **8**: 22-28.

- [12] Santos LA et al. Determinação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da planta *Plectranthus ornatus* CODD (boldo chinês). *Rev Méd Minas Gerais* 2014; **24**: 119-129.
- [13] Audi EA. et al. Biological activity and quality control of extract and stem bark from *Stryphnodendron adstringens*. *Acta farm. bonaer* 2004; **23**: 328-333.
- [14] Battestin V, Matsuda LK, Macedo GA. Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. *Rev Alimentos e Nutrição* 2004; **15**: 63-72.
- [15] Lima CRO. et al. Caracterização dos metabólitos secundários do barbatimão. *Manual do barbatimão* 2010; **7**: 61-68.
- [16] Brasil. Farmacopeia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 5. ed. Brasília: ANVISA 2010; **2**: 904.
- [17] CLSI - Clinicial Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; 9th Edition; 2010.
- [18] Montejano HA, Gervaldo M. Bertolotti SG. The excited-states quenching of resazurin and

resorufin by p-benzoquinones in polar solvents.

Dyes and Pigment 2005; **64**: 117-124.

[19] Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother* 2001; **48**:5-16.

[20] Lopes GC et al. Determinação quantitativa de taninos em três espécies de *Stryphnodendron* por cromatografia líquida de alta eficiência. *Braz J Pharm Sci* 2009; **45**: 135-143.

[21] Souza NC et al. Absence of Genotoxicity of a Phytotherapeutic Extract From *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville in Somatic and Germ Cells of *Drosophila melanogaster*. *Wiley-Liss* 2003; **43**: 293-299.

[22] Sanches ACC et al. Estudo Morfológico Comparativo das Cascas e Folhas de *Stryphnodendron adstringens*, *S. polyphyllum* e *S. obovatum* - Leguminosae. *Latim Am J Pharm* 2007; **26**: 362-368.

[23] Melo JOA. et al. Effect of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) bark on animal models of nociception. *Rev Bra Cienc Farm* 2007; **43**: 465-469.

- [24] Monteiro JM, Albuquerque UP, Araújo EL. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Química Nova* 2005; **28**: 892-896.
- [25] Pinho L et al. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. *Ciência Rural* 2012; **42**:326-331.
- [26] Bamoniri A, Ebrahimabadi AH, Mazoochi A, Behpour M, Kashi FJ, Boudet AM. Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry* 2007, **68**:22-24.
- [27] Souza TM et al. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 2007; **28**: 221-226.
- [28] Hasenack BS et al. Antibacterial activity of Barbatimão extract on *Staphylococcus aureus* strains isolated from secretions of ambulatory patients' chronic wounds. *Cient Ciênc Biol Saúde* 2008; **10**: 13-18.
- [29] Ferreira SB et al. Avaliação da Atividade Antimicrobiana in vitro do extrato hidroalccólico de *Stryphnodendrom adstringens* (Mart.)

Coville sobre isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. *RBAC* 2009; **42**: 27-31.

[30] Soares SP et al. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. *Rev Odontol Ciênc* 2008; **23**: 141-144.

[31] Tavares W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Rev Soc Bras Med Trop* 2000; **33**: 281-301.

[32] Cos P, Vlietinck AJ, Berghe DV, Maes L. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. *Journal of Ethnopharmacology* 2006, **106**: 290-302.

[33] Mbosso EJT, Ngouela S, Nguedia JCA, Beng VP, Rohmer M, Tsamo E. In vitro antimicrobial activity of extracts and compounds of some selected medicinal plants from Cameroon. *Journal of Ethnopharmacology* 2010, **128**: 476-481.

* A tabela 1 deve ser inserida na página 10

Tabela 1. Concentração inibitória mínima e potencial antimicrobiano do extrato etanólico da casca de *Stryphnodendron barbatiman* Mart. frente diferentes micro-organismos.

Micro-organismos	Tipo de Micro-organismo	CIM µg/mL	Potencial antimicrobiano
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Bactéria G+	250	Bacteriostático
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bactéria G-	250	Bacteriostático
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFPEDA 416	Bactéria G-	250	Bacteriostático
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 29665	Bactéria G-	250	Bacteriostático
<i>Candida albicans</i> URM 6547	Levedura	250	Fungistático
<i>Candida krusei</i> URM 5840	Levedura	250	Fungistático
<i>Candida famata</i> URM 7085	Levedura	250	Fungistático
<i>Candida tropicalis</i> URM 6947	Levedura	250	Fungistático

<i>Candida guilliermondii</i>	Levedura	250	Fungistático
URM 5936			
<i>Candida parapsilosis</i>	Levedura	250	Fungistático
URM 6405			
CO1	Cultura mista de cavidade oral	250	Bacteriostático
CO2	Cultura mista de cavidade oral	250	Bacteriostático
CO3	Cultura mista de cavidade oral	125	Bacteriostático
CO4	Cultura mista de cavidade oral	250	Bacteriostático
CO5	Cultura mista de cavidade oral	250	Bacteriostático
CO6	Cultura mista de cavidade oral	250	Bacteriostático
CO7	Cultura mista de cavidade oral	250	Bacteriostático
CO8	Cultura mista de cavidade oral	250	Bacteriostático
CO9	Cultura mista de cavidade oral	125	Bacteriostático
CO10	Cultura mista de cavidade oral	125	Bacteriostático
CO11	Cultura mista de cavidade oral	62,5	Bacteriostático

CO12	Cultura mista de cavidade oral	250	Bacteriostático
CO13	Cultura mista de cavidade oral	250	Bacteriostático
CO14	Cultura mista de cavidade oral	250	Bacteriostático
CO15	Cultura mista de cavidade oral	250	Bacteriostático
