

Atividade antifúngica do extrato aquoso de *Arctium minus* (Hill) Bernh. (Asteraceae) sobre espécies orais de *Candida*

LUBIAN, C.T.¹; TEIXEIRA, J.M.¹; LUND, R.G.^{1*}; NASCENTE, P.S.²; DEL PINO, F.A.B.³

¹Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Rua Gonçalves Chaves, 457, Centro, CEP: 96015-000, Pelotas-Brasil *rafael.lund@gmail.com ²Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, UFPel, Campus universitário Capão do Leão s/n, Caixa Postal 354, CEP: 96010-900, Pelotas-Brasil patsn@bol.com.br ³Departamento de Bioquímica, Instituto de Química e Geociências, UFPel, Campus universitário Capão do Leão s/n, Caixa Postal 354, CEP: 96010-900, Pelotas-Brasil fabdp@terra.com.br

RESUMO: Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica do extrato aquoso de folhas de “bardana” [*Arctium minus* (Hill) Bernh.], por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) sobre diferentes espécies e linhagens do gênero *Candida*. Foram incluídas no trabalho as espécies de *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. stellatoidea*, *C. dubliniensis* e *C. krusei*. Utilizaram-se quatro linhagens de *C. albicans* e três de *C. tropicalis*, enquanto que para as demais espécies, apenas uma linhagem foi testada. Estas leveduras foram utilizadas no estudo devido à importância e frequência na cavidade bucal. As leveduras foram submetidas a tratamentos com concentrações do extrato aquoso que variaram de 0,09 a 25 mg mL⁻¹. Os resultados indicaram que concentrações inferiores a 12,5 mg mL⁻¹ não são suficientes para apresentar efeito fungistático ou fungicida. A concentração de 12,5 mg mL⁻¹ apresentou efeito fungistático sobre a maioria das linhagens e espécies testadas (*C. albicans* 04A e ATCC44858; *C. tropicalis* 23600 e 23651; *C. glabrata*; *C. stellatoidea*; *C. dubliniensis* e *C. krusei*). Entretanto, efeito fungicida foi observado apenas sobre a espécie *C. krusei* (CFM=12,5 mg mL⁻¹). Comportamento diferenciado foi observado entre diferentes linhagens de uma espécie (para *C. albicans* e *C. tropicalis*). Assim, a ação antifúngica do extrato aquoso de *A. minus* (Hill) Bernh. provavelmente está associada à variabilidade genética existente entre as diferentes linhagens de uma mesma espécie e das diferentes espécies, sendo que concentrações inferiores a 12,5 mg mL⁻¹ não apresentaram efeito sobre as leveduras testadas. Com base na metodologia empregada e dentro das limitações deste estudo, conclui-se que o extrato aquoso de *A. minus* revelou efeito antifúngico, principalmente fungistático, contra espécies de *Candida* orais. Porém, novos estudos são necessários para avaliar o seu real potencial antifúngico dentro do meio bucal.

Palavras-chave: *Arctium minus*, *Candida*, atividade antifúngica, Asteraceae, plantas medicinais

ABSTRACT: Antifungal activity of the aqueous extract from *Arctium minus* (Hill) Bernh. (Asteraceae) on oral *Candida* species. This study aimed to evaluate the antifungal activity of the aqueous extract from leaves of burdock [*Arctium minus* (Hill) Bernh.] by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Fungicidal Concentration (MFC) on different species and strains of *Candida* genus. The species *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. stellatoidea*, *C. dubliniensis*, and *C. Krusei* were included in this study. Four *C. albicans* and three *C. tropicalis* strains were used, whereas only one strain of each remaining species was tested. Such yeasts were used in this study due to their importance and frequency in the oral cavity. The yeasts were subjected to treatments with aqueous extract concentrations that ranged from 0.09 to 25 mg mL⁻¹. Concentrations lower than 12.5 mg mL⁻¹ were not enough to present fungicidal or fungistatic effect. The concentration of 12.5 mg mL⁻¹ had fungistatic effect on most tested strains and species (*C. albicans* 04A and ATCC44858; *C. tropicalis* 23600 and 23651; *C. glabrata*; *C. stellatoidea*; *C. dubliniensis*; and *C. krusei*). However, fungicidal effect was only observed on the species *C. krusei* (MFC=12.5 mg mL⁻¹). A distinct performance was observed among different strains from the same species (for *C. albicans* and *C. tropicalis*). Thus, the

antifungal action of *A. minus* (Hill) Bernh. aqueous extract is probably associated with the genetic variability present among the different strains of one same species and among different species; besides, concentrations lower than 12,5 mg mL⁻¹ did not have an effect on the tested yeasts. The adopted methodology and considering the limitations of this study led to the conclusion that the aqueous extract of *A. minus* presented antifungal effect, mainly fungistatic, against oral *Candida* species. However, new studies are needed to evaluate its real antifungal potential inside the oral environment.

Key words: *Arctium minus*, *Candida*, antifungal activity, Asteraceae, medicinal plants

INTRODUÇÃO

O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto à espécie humana, tendo o conhecimento popular grande contribuição para divulgação das virtudes terapêuticas obtidas a partir do uso destas plantas. Assim, esse conhecimento representa, muitas vezes, um recurso terapêutico para muitas comunidades e grupos étnicos (Maciel et al., 2002) que não dispõem de acesso a outros tratamentos disponíveis pela medicina ou que a preferem em relação à medicina tradicional por questões culturais.

Dessa forma, usuários de plantas medicinais de diversas partes do mundo mantêm a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos. De maneira indireta, a medicina popular desperta o interesse de pesquisadores em estudos multidisciplinares que enriquecem o inesgotável conhecimento a respeito do uso terapêutico de plantas medicinais (Maciel et al., 2002). De acordo com Gregório (2006), estima-se que em alguns continentes como a África até 80% da população faz uso de medicamentos de origem vegetal. Na Alemanha e França são 75%, no Canadá 70% e nos EUA 42%.

A espécie *Arctium minus* (Hill) Bernh., conhecida popularmente como “bardana”, representa uma das espécies vegetais com vasta utilização na medicina fitoterápica. É planta bianual, herbácea, nativa do Japão, pertencente à família Asteraceae, que se caracteriza por apresentar folhas grandes e flores arroxeadas e, durante o primeiro ano, uma roseta com folhas largas. No segundo ano, as plantas podem atingir de 90 a 210 cm de altura (Kirici et al., 2004).

Diversas atividades biológicas desta planta já foram descritas na literatura (Knott et al., 2008; Erdemoglu et al., 2009; Ferracane et al., 2010), entre elas a atividade antimicrobiana *in vitro* sobre bactérias e leveduras especialmente do gênero *Candida* (Holetz et al., 2002; Pereira et al., 2005). Estas leveduras são responsáveis pela candidíase bucal, infecção fúngica mais comum da cavidade bucal (Samaranayake, 1986; Freitas & Birman, 1989) e que pode ser causada por diversas leveduras do gênero

Candida. A *Candida albicans* é a espécie oportunista mais frequentemente envolvida em infecções orais (Heimdahl, 1990), seguida por *C. tropicalis* (Odds, 1987) e outras espécies menos patogênicas como a *C. krusei* (Samaranayake et al., 1998). De acordo com Batista et al. (1999), a *C. albicans* revela dificuldade para ser controlada, visto que nem todos os antifúngicos de uso tópico são suficientemente eficazes contra ela.

Para Santos et al. (2007), outra doença grave, em muitos casos relacionados à prática odontológica, é a endocardite, podendo ser causada por bactérias (*Streptococcus viridans* e *Staphylococcus aureus*) ou fungos (*C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. guilliermondii*). Desta forma, a profilaxia antibiótica é recomendada em procedimentos odontológicos associados com sangramento excessivo (Andrade et al., 1998). Assim, além dos produtos convencionais utilizados, como a amoxicilina, produtos naturais estão sendo atualmente amplamente utilizados no controle dessas infecções, devido a sua eficácia e facilidade de aquisição pela população em geral (Santos et al., 2007). Sempre em que é detectada a presença de resistência antimicrobiana ao tratamento convencional, recomenda-se o isolamento do agente patogênico responsável pela infecção e a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração fungicida mínima (CFM) das drogas passíveis de utilização contra este microrganismo (Batista et al., 1999).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito antifúngico do extrato aquoso das folhas de *A. minus* (Hill) Bernh., por meio da determinação da CIM e CFM sobre diferentes espécies e linhagens do gênero *Candida*.

MATERIAL E MÉTODO

Colheita e preparo da matéria prima

Partes aéreas da planta “bardana” [*A. minus* (Hill) Bernh.], pertencente à família Asteraceae, foram coletadas no município de Passo Fundo (RS), durante o período de floração (Primavera). Toda a colheita foi

realizada no mesmo dia, no mês de novembro de 2006. A exsiccata da planta foi realizada no Departamento de Botânica da UFPel. Uma espécime-testemunha foi depositada no Herbário da UFPel sob o número Pel 24578.

Posteriormente, as plantas foram armazenadas em sala de desidratação, à temperatura de 24°C, durante 45 dias para secagem. Após esse período, as folhas foram separadas dos caules e frutos e foram trituradas em moinho no Departamento de Zootecnia da Faculdade de Agronomia/UFPel, obtendo-se a biomassa vegetal (pó) para preparação do extrato aquoso.

O preparo do extrato aquoso de *A. minus* (Hill) Bernh. foi realizado no Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Bioquímica, Instituto de Química e Geociências, da UFPel. O isolamento e crescimento das leveduras, bem como, os testes microbiológicos foram realizados no Laboratório de Microbiologia Oral da Faculdade de Odontologia (FO/UFPel).

Preparo do extrato aquoso

Foram utilizadas 20 g de pó seco das folhas de *A. minus* (Hill) Bernh. para 1000 mL de água destilada, em 5 etapas de preparação para obtenção do extrato aquoso estéril: 1) Vinte gramas (20 g) de matéria vegetal seca (pó) foram suspensos em 300 mL de água destilada a 100°C, permanecendo em infusão por 24h, devidamente fechado e protegido da luz; 2) Após este período, procedeu-se a filtração, e foram adicionados mais 350 mL de água destilada ao resíduo vegetal da filtração à temperatura de 100°C, sendo este mantido em infusão por mais 24h de forma semelhante à primeira fase; 3) A extração obtida nesta segunda fase foi filtrada e ao resíduo resultante da filtração, foram adicionados mais 350 mL de água destilada a 100°C e mantidos em infusão por mais 24h, concluindo o processo de extração; 4) Ao final da última filtração foram obtidos três extratos aquosos brutos que foram misturados resultando em um único extrato; 5) O extrato final foi submetido à filtração a vácuo, sendo que no momento da realização do experimento o volume de extrato que seria utilizado foi previamente submetido à filtração microbiológica com membrana Milipore® de 0,22 µm, e esta solução foi acondicionada em tubos estéreis de vidro, mantidos a 4°C e protegidos da luz.

Isolamento dos microrganismos

Foram utilizadas cepas puras de coleção (ATCC44858) e três diferentes cepas de isolados clínicos de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*, obtidas junto ao Laboratório de Microbiologia Oral da FO/UFPel, que haviam sido coletadas de pacientes com diagnóstico clínico de candidíase atrófica crônica (estomatite pelo uso de dentadura).

Preparo do inóculo

As leveduras das diferentes cepas foram ativadas em meio Agar Sabouraud dextrose, sendo semeadas e incubadas por 24h a 36°C. As colônias foram suspensas em 5 mL de solução salina estéril 0,85% (0,145 mol L⁻¹; 8,5 g L⁻¹ NaCl). A suspensão resultante foi homogeneizada em agitador de tubos durante 15 segundos e a densidade celular, ajustada visualmente, à turbidez equivalente à escala 1,0 de McFarland.

Determinação da CIM

Os testes da atividade antifúngica foram realizados pela técnica de microdiluição em caldo (MC), de acordo com o documento de referência M27A2 (NCCLS/CLSI, 2005). Esta metodologia foi utilizada para testar as leveduras frente ao extrato aquoso das folhas de *Arctium minus* L., recebendo adaptação da técnica para este. As concentrações do extrato aquoso testadas frente às diferentes espécies e linhagens de *Candida* variaram de 0,09 a 25 mg mL⁻¹. Utilizou-se o meio sintético RPMI 1640 (com glutamina, sem bicarbonato e com indicador vermelho de fenol) tamponado em MOPSO [ácido 3-(N-morfolino) propanosulfônico], de acordo com padrões do Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) (NCCLS/CLSI, 2005).

Em todos os testes foram utilizados controle positivo, caracterizado por 100 µL de meio de cultivo RPMI e 100 µL da solução inóculo, e controle negativo contendo somente 200 µL do meio de cultivo líquido RPMI. As placas foram incubadas a 36°C por 72h, com leituras realizadas a cada 24h.

Para leitura do teste, foi realizada comparação visual do crescimento da levedura ocorrido nos poços referentes às diferentes concentrações testadas com o seu crescimento no poço-controle positivo. A menor concentração capaz de produzir inibição do crescimento da levedura em relação ao poço controle-positivo foi identificada como a CIM (Concentração Inibitória Mínima) do extrato vegetal para esta amostra. Todas as diluições do extrato vegetal e grupos de controle foram testados em duplicata.

Determinação da CFM

A CFM foi determinada a partir dos resultados obtidos na CIM. Uma alíquota de 50 µL dos poços que apresentaram inibição foi semeada sobre a superfície de placa contendo ágar Sabouraud dextrose e incubadas a 36°C por 24h. A CFM foi considerada como a menor concentração do extrato aquoso bruto da *A. minus* (Hill) Bernh. que não apresentou crescimento fúngico na superfície do meio de cultivo após incubação. Todos os testes foram realizados em duplicata.

RESULTADO

A Tabela 1 apresenta o efeito do extrato de *A. minus* (Hill) Bernh. sobre as diferentes espécies e linhagens do gênero *Candida*. A atividade foi avaliada contra as linhagens de *C. albicans* (4 linhagens), *C. tropicalis* (3), *C. glabrata* (1), *C. stellatoidea* (1), *C. dubliniensis* (1) e *C. krusei* (1), totalizando 11 amostras fúngicas.

O extrato apresentou concentração inibitória mínima (CIM) de 25 mg mL⁻¹ sobre o isolado clínico de *C. tropicalis* e de 12,5 mg mL⁻¹ sobre alguns isolados clínicos e cepa ATCC44858 de *C. albicans*, e isolados de *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. stellatoidea*, *C. dubliniensis* e *C. Krusei*. Porém, o extrato não inibiu o crescimento de um isolado clínico de *C. tropicalis* e dois de *C. albicans*.

Com relação à atividade fungicida, o extrato apresentou concentração fungicida mínima (CFM) de 12,5 mg mL⁻¹ para o isolado de *C. Krusei*. Para todas as demais linhagens e espécies, o extrato não apresentou CFM.

DISCUSSÃO

De acordo com este estudo, concentrações inferiores a 12,5 mg mL⁻¹ foram insuficientes para que o extrato aquoso de *Arctium minus* apresentasse efeito fungistático ou fungicida *in vitro*. Já a

concentração de 12,5 mg mL⁻¹ apresentou efeito fungistático sobre a maioria das linhagens e espécies testadas (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. stellatoidea*, *C. dubliniensis* e *C. krusei*, sendo que o comportamento antifúngico diferenciado foi observado entre linhagens de *C. albicans* e *C. tropicalis*) e efeito fungicida foi observado apenas sobre uma espécie de *C. krusei*.

Assim como a espécie *A. minus* (Hill) Bernh. avaliada neste estudo, existe outra espécie do gênero *Arctium*, também vulgarmente conhecida como “bardana”, que têm revelado resultados satisfatórios em ensaios biológicos de atividade antimicrobiana. De acordo com Teske & Trentini (1991), tanto na raiz quanto nas folhas da “bardana” da espécie *A. lappa* são encontradas várias substâncias com potencial terapêutico, tais como óleos essenciais, polifenóis, composto antibiótico semelhante à penicilina, vitaminas B e C, cálcio, fósforo e ferro.

Estudos conduzidos para avaliar o efeito de extratos das duas espécies de “bardana” (*A. minus* e *A. lappa*) têm evidenciado atividades biológicas variadas, tais como: antibacteriana e antifúngica (Teske & Trentini, 1991), ação diurética (Teske & Trentini, 1991), ação antioxidante (Maruta et al., 1995), ação ansiolítica (Sbolli et al., 1996) e efeito de antiagregação plaquetária (Iwakami et al., 1992). Em estudo realizado por Perin et al. (2002) com o extrato

TABELA 1. Efeito do extrato aquoso de *A. minus* (Hill) Bernh. em diferentes espécies e linhagens do gênero *Candida*.

Fungos		CIM (mg mL ⁻¹)	CFM (mg mL ⁻¹)
Espécies	Linhagens		
<i>Candida albicans</i>	26609B	–	–
<i>C. albicans</i>	23574	–	–
<i>C. albicans</i>	04A	12,5	–
<i>C. albicans</i>	ATCC44858	12,5	–
<i>C. tropicalis</i>	23615	–	–
<i>C. tropicalis</i>	23600	25	–
<i>C. tropicalis</i>	23651	12,5	–
<i>C. glabrata</i>	45ME	12,5	–
<i>C. stellatoidea</i>	44ME	12,5	–
<i>C. dubliniensis</i>	37ME	12,5	–
<i>C. krusei</i>	96A	12,5	12,5

CIM: Concentração Inibitória Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; –: Não apresentou efeito sobre os microrganismos testados.

aquoso da *A. lappa* L., ficou evidenciado o potencial antimicrobiano contra microrganismos orais específicos e associados com infecções endodônticas (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*). Pereira et al. (2005) também avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato bruto hidroalcolico das folhas de *A. lappa* L., bem como das frações, contra diversas bactérias e *Candida albicans*. Os ensaios de bioautografia revelaram substâncias antimicrobianas na fração hexânica deste extrato hidroalcolico. Em outro estudo, Gentil et al. (2006) observaram que a fração de acetato etílico da *A. lappa* L., utilizada como medicação intracanal por cinco dias em dentes infectados com *C. albicans* e outros microrganismos, inibiu o crescimento microbiano após 14 dias. Estes estudos mostram a necessidade de melhor entendimento do efeito desta espécie sobre patógenos envolvidos em infecções endodônticas.

Outros estudos têm demonstrado efeito hepatoprotetor no uso crônico de etanol e também contra carcinógenos, sendo que estes efeitos estão relacionados provavelmente aos seus componentes lignanas, que apresentam atividade antioxidante (Morita et al., 1984; Lin et al., 1996; Lin et al., 2000).

Os resultados evidenciados neste estudo demonstram o efeito diferenciado do extrato da *A. minus* (Hill) Bernh. em distintas espécies e linhagens de *Candida*, indicando que o extrato aquoso da planta apresenta considerável efeito sobre o crescimento destes microrganismos. A ocorrência de candidíase no Brasil e a importância clínica em pacientes imunocomprometidos justificam este estudo com diferentes linhagens de *Candida*. Nesta pesquisa, a atividade antifúngica do extrato bruto aquoso das folhas de *Arctium minus* foi avaliada contra 1 cepa ATCC44858 de *Candida albicans* e 3 isolados clínicos desta espécie, além de 7 cepas de isolados clínicos de espécies de *Candida* não-*albicans*. O comportamento diferenciado obtido entre cepas da mesma espécie poderia ser justificado pela existência da variabilidade genética entre diferentes linhagens, como revelado nos resultados das espécies *C. albicans* e *C. tropicalis*.

Um importante fator a ser considerado quando se realiza qualquer pesquisa envolvendo plantas medicinais e se tenta extrapolar os resultados obtidos, é quanto a fatores ambientais envolvidos no momento da coleta da planta, como sazonalidade, clima, tipo de solo e temperatura do ar. De acordo com Freitas et al. (2004), a produção de metabólitos secundários pela planta ocorre em função da interação planta *versus* ambiente em resposta a fatores químicos e biológicos. Este fato pode explicar resultados divergentes de extratos da mesma espécie, mas coletado em locais e períodos

diferentes. O extrato aquoso de *A. minus* testado neste estudo foi obtido a partir de vegetais colhidos em única estação do ano (Primavera), em único período do mês (novembro de 2006) e da mesma localidade do município gaúcho de Passo Fundo.

Além disso, é importante ressaltar que no preparo dos inóculos de *Candida*, estes foram padronizados pela escala de McFarland, mas não foi realizada a técnica de *pour-plate* para confirmação da homogeneidade entre as concentrações dos inóculos. Isto também pode ser considerado como limitação deste estudo tendo em vista que esta poderia ser uma das causas da variabilidade das CIM encontradas entre cepas e isolados de mesma espécie.

A “bardana” apresenta efeito sobre ampla gama de patógenos, em diferentes áreas de pesquisa (Santos et al., 2007). Neste estudo, podemos constatar o efeito principalmente sobre a inibição do crescimento da maioria das espécies e linhagens de *Candida* testadas, comprovando o efeito fungistático. Por outro lado, o efeito fungicida do extrato aquoso da *A. minus* (Hill) Bernh. foi observado apenas sobre uma das espécies testadas. A concentração de 12,5 mg mL⁻¹ foi suficiente para eliminar a espécie *C. krusei*. Contudo, mesmo nas concentrações mais elevadas testadas, não se observou efeito sobre as demais espécies, indicando a necessidade de outros testes envolvendo concentrações superiores a 25 mg mL⁻¹ do extrato aquoso de *A. minus* (Hill). Holetz et al. (2002) observaram a necessidade de concentrações de extratos de “bardana”, da espécie *A. lappa* L. superiores a 1000 mg mL⁻¹ para obtenção de ação fungistática sobre as espécies *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. Neste sentido, concentrações superiores associadas ao maior número de linhagens e espécies deste fungo são necessários, com a finalidade de serem obtidos resultados mais robustos sobre o efeito do extrato aquoso de *A. minus* (Hill) Bernh. sobre as diferentes espécies e linhagens do gênero *Candida*.

CONCLUSÃO

O extrato aquoso de *A. minus* (“bardana”) possui efeito antifúngico *in vitro*, principalmente fungistático, contra espécies de *Candida* orais. Porém, novos estudos são necessários para avaliar o seu real potencial terapêutico dentro do meio bucal.

REFERÊNCIA

ANDRADE, E.D.; PASSERI, L.A.; MATTOS FILHO, T.R. Prevenção da endocardite bacteriana. Novas recomendações da *American Heart Association*. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v.52, n.5, p.353-7, 1998.

- BATISTA, J.M.; BIRMAN, E.G.; CURY, A.E. Suscetibilidade a antifúngicos de cepas de *Candida albicans* isoladas de pacientes com estomatite protética. **Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo**, v.13, n.4, p.334-48, 1999.
- ERDEMOGLU, N. et al. Estimation of anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of *Arctium minus* (Hill) Bernh. ssp. Minus. **Journal of Ethnopharmacology**, v.121, p.318-23, 2009.
- FERRACANE, R. et al. Metabolic profile of the bioactive compounds of burdock (*Arctium lappa*) seeds, roots and leaves. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.51, p.399-404, 2010.
- FREITAS, H.R.; BIRMAN, E.G. Candidose bucal: aspectos clínicos e terapêuticos. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v.43, p.227-30, 1989.
- FREITAS, M.S.M. et al. Crescimento e produção de fenóis totais em carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) D.C.] em resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares, na presença e na ausência de adubação mineral. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, n.3, p.30-4, 2004.
- GENTIL, M. et al. In vitro evaluation of the antibacterial activity of *Arctium lappa* as phytotherapeutic agent used in intracanal dressings. **Phytotherapy Research**, v.20, n.3, p.184-6, 2006.
- GREGÓRIO, G. Nova legislação de fitomedicamentos inclui plantas brasileiras. **Phytomédica**, v.1, n.1, p.5, 2006. Disponível em: <http://www.ache.com.br/arquivo/institucional/phytomedica_jornal/numero5.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2008.
- HEIMDAHL, A.; NORD, C.E. Oral yeast infections in immunocompromised and seriously diseased patients. **Acta Odontologica Scandinavica**, v.48, p.77-84, 1990.
- HOLETZ, F.B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, p.1027-31, 2002.
- IWAKAMI, S. et al. Platelet activating factor antagonists contained in medical plants lignans and sesquiterpenes. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.40, n.5, p.196-7, 1992.
- KIRICI, S.; KAYA, D.A.; INAN, M. Effect of the different row arrangements on the bioagronomic properties and dye stuff content of *Arctium minus* (Hill) Bernh. subsp. pubens. "**Ovidius**" **University Annals of Medical Science - Pharmacy**, v.2, n.2, p.56-9, 2004.
- KNOTT, A. et al. Natural *Arctium lappa* fruit extract improves the clinical signs of aging skin. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v.7, p.281-9, 2008.
- LIN, C.C. et al. Anti-inflammatory and radical scavenge effects of *Arctium lappa*. **The American Journal of Chinese Medicine**, v.24, p.127-37, 1996.
- LIN, S.C. et al. Hepatoprotective effects of *Arctium lappa* on carbon tetrachloride and acetaminophen- induced liver damage. **The American Journal of Chinese Medicine**, v.28, p.163-73, 2000.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, C.A.; VEIG, J.V.F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-38, 2002.
- MARUTA, Y.; KAWABATA, J.; NIKI, R. Antioxidative caffeoylquinic acid derivatives in the roots of burdock. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.4, p.2592-5, 1995.
- MORITA, K.; KODA, T.; NAMIKI, M. A desmutagenic factor isolated from burdock (*Arctium lappa* L.). **Mutation Research**, v.129, p.25-31, 1984.
- NCCLS/CLSI. **Método de Referência para testes de diluição em caldo para determinação da sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica**: Norma aprovada – 2.ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005. 45p.
- ODDS, F.C. *Candida* infections: an overview. **Critical Reviews in Microbiology**, v.5, p.1-5, 1987.
- PEREIRA, J.V. et al. Antimicrobial activity of *Arctium lappa*: constituents against microorganism commonly found in endodontic infections. **Brazilian Dental Journal**, v.16, n.3, p.192-6, 2005.
- PERIN, F.M. et al. In vitro antimicrobial of aqueous herbal extracts for Endodontics. **Journal of Dental Research**, v.81, p.157, 2002 (Abstract 927).
- SAMARANAYAKE, L.P. Nutritional factors and oral candidosis. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v.15, p.61-5, 1986.
- SAMARANAYAKE, Y.H. et al. The relative pathogenicity of *Candida krusei* and *C. albicans* in the rat oral mucosa. **Journal of Medical Microbiology**, v.47, p.1047-50, 1998.
- SANTOS, E.B. et al. Eficácia antimicrobiana de produtos naturais frente a microrganismos causadores da endocardite bacteriana. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v.13, p.67-72, 2007.
- SBOLLI, K.C. et al. Estudo Farmacológico da atividade depressora do sistema nervoso central (SNC) do extrato bruto da *Arctium lappa*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 14., 1996, Florianópolis. **Livro de Resumos...** Florianópolis: Setembro Villimpress, 1996.
- TESKE, M.; TRENTINI, M. **Compêndio de fitoterapia**. 2.ed. Curitiba: Herbarium, 1991. 317p.