

AVALIAÇÃO IN VITRO DA AÇÃO DO EXTRATO GLICÓLICO DE GENGIBRE SOBRE CANDIDA ALBICANS.

EVALUATION IN VITRO OF THE ACTION OF THE EXTRACT GLYCOLIC OF GINGER ON CANDIDA ALBICANS

Alana Priscila Souza Aguiar *
Lilian Polidório Caires **
Lilian Eiko Maekawa ***
Márcia Carneiro Valera ****
Cristiane Yumi Koga-Ito *****

RESUMO

Introdução: Os fungos têm sido associados a casos de infecções secundárias ou infecções persistentes de canais radiculares e periodontites apicais crônicas. Dentre as espécies relatadas, a *Candida albicans* é uma das mais comuns e resistentes a muitas substâncias químicas durante a terapia endodôntica. Os produtos de origem vegetal são utilizados na Odontologia com a vantagem de não apresentarem efeitos colaterais significativos. O objetivo deste estudo é avaliar *in vitro* a atividade do extrato glicólico do gengibre e do hipoclorito de sódio (NaOCl 2,5%), comercialmente obtidos, sobre *Candida albicans*. A efetividade desse extrato e do NaOCl em diferentes concentrações (50%, 25%, 12,5% e 6,25%) foi testada por meio da técnica de microdiluição em caldo de cultura em 24 amostras clínicas previamente identificadas como *C. albicans* e 1 amostra-padrão ATCC 18804. **Métodos:** Os testes foram realizados em duplicata e incluiu controle de crescimento das amostras. Após incubação por 24 horas a 37° C, a concentração da diluição inibitória mínima (DIM) foi obtida por análise comparativa com o controle de crescimento. A concentração de diluição fungicida mínima (DFM) também foi obtida pela metodologia de semeadura em ágar Sabouraud. **Resultados e Conclusão:** Os resultados mostraram que o extrato de gengibre apresentou atividade fungicida a partir da concentração de 12,5% (DFM) e apresentou atividade fungistática de 6,25% (DIM). O hipoclorito de sódio apresentou atividade fungicida desde a concentração de 6,25%, sendo equivalente à concentração de diluição inibitória mínima. Conclui-se que o extrato de gengibre e o hipoclorito de sódio apresentam efeito fungicida sobre *C. albicans*. Entretanto, essa atividade do extrato de gengibre mostrou-se concentração-dependente.

DESCRIPTORIOS: Candida albicans • Gengibre • Hipoclorito de sódio

ABSTRACT

Introduction: The fungi have been associated with cases of secondary infections or persistent infections of root canals and chronic apical periodontitis. Among the species reported, *Candida albicans* is one of the most common and resistant to many chemicals during endodontic therapy. The products of plant origin are used in dentistry with the advantage of not presenting significant side effects. The aim of this study is to evaluate *in vitro* the activity of glycolic extract of ginger and sodium hypochlorite (NaOCl 2.5%), commercially obtained, on *Candida albicans*. The effectiveness of this extract and NaOCl at different concentrations (50%, 25%, 12.5% and 6.25%) was tested by microdilution in broth culture in 24 clinical samples previously identified as *C. albicans* and 1 sample ATCC 18,804. **Methods:** The tests were performed in duplicate and included control of growth of the samples. After incubation for 24 hours at 37 ° C, the concentration of the minimum inhibitory dilution (MID) was obtained by comparison with the control of growth. The concentration of minimum fungicidal dilution (MFD) was also obtained by the method of sowing on agar medium. **Results and Conclusion:** The results showed that the extract of ginger showed fungicidal activity at concentrations of 12.5% (MFD) and showed fungistatic activity of 6.25% (MID). Sodium hypochlorite showed fungicidal activity since the concentration of 6.25%, equivalent to the concentration of minimum inhibitory dilution. Concluded that ginger extract and sodium hypochlorite have fungicidal effect on *C. albicans*. However, this activity of ginger extract was shown to be concentration-dependent.

DESCRIPTORS: Candida albicans • Ginger • Sodium hypochlorite

* Mestranda em Endodontia pela Faculdade de Odontologia São José dos Campos - (UNESP)

** Estagiária do Centro de Trauma Dental da Faculdade de Odontologia São José dos Campos - (UNESP)

*** Doutoranda em Endodontia pela Faculdade de Odontologia São José dos Campos - (UNESP)

**** Prof^ª Adjunto da disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia São José dos Campos - (UNESP)

***** Prof^ª Adjunto da disciplina de Microbiologia da Faculdade de Odontologia São José dos Campos - (UNESP)

INTRODUÇÃO

Os microrganismos são os principais agentes etiológicos das alterações pulpares e periapicais, sendo fundamental seu controle e eliminação, assim como, a neutralização de seus produtos durante o tratamento endodôntico (Siqueira *et al.*²⁶ 2003, Tanomaru *et al.*²⁷ 2003). Numerosos estudos analisaram a microbiota de canais infectados (Estrela *et al.*⁷ 2003, Ruff *et al.*²¹ 2006, Sassone *et al.*²³ 2003), verificando que os fungos oscilam entre 1% e 17% (Baungarten *et al.*⁴ 2000).

Os fungos têm sido associados a casos de infecções secundárias ou infecções persistentes de canais radiculares e periodontites apicais crônicas (Policegoudra *et al.*¹⁹ 2007, Sina *et al.*²⁴ 2006). O número de fungos nas infecções endodônticas é muito menor em relação ao de bactérias, entretanto é o suficiente para manter lesão periapical. Dentre as espécies relatadas, a *Candida albicans* é uma das mais comuns e resistentes a muitas substâncias químicas durante a terapia endodôntica. Em 87% dos casos, a *Candida albicans* é encontrada associada a bactérias gram-positivas embora, possa também ser isolada em cultura pura ou associada a bactérias facultativas como *Enterococcus* nas periodontites apicais crônicas (Levy *et al.*¹⁴ 2006, Ojewole¹⁶ 2006, Valera *et al.*²⁸ 2001).

A eliminação dos microrganismos das ramificações dos canais radiculares e demais áreas de propagação microbiana deve ser realizada utilizando-se substâncias químicas auxiliares durante o preparo biomecânico e medicações intracanaís. Soluções irrigadoras em diferentes concentrações com atividade antimicrobiana têm sido utilizadas, particularmente o hipoclorito de sódio (NaOCl) (Dumai *et al.*⁶ 2007, Raddiffe *et al.*²⁰ 2004, Tanomaru *et al.*²⁷ 2003, Zhou *et al.*³¹ 2006). Este potente desinfetante elimina microrganismos nas concentrações 0,5% a 5% em períodos de tempo clinicamente relevantes (Siqueira *et al.*²⁵ 2000). Ele tem um alto espectro antimicrobiano, conseguindo atuar na *Candida albicans* em baixas concentrações. Contudo, o hipoclorito de sódio pode ser cáustico para os tecidos periapicais, se inadvertidamente for introduzido neles. A reação dos tecidos irá depender do volume e da concentração a que foram expostos (Ayhan *et al.*² 1999, Policegoudra *et al.*¹⁹ 2007, Siqueira *et al.*²⁶ 2003, Waltimo *et al.*²⁹ 2000). Soluções irrigadoras alternativas que conjuguem concomitantemente a ação antimicrobiana e a propriedade de biocompatibilidade estão sendo pesquisadas.

Recentemente, a busca por fitoterápicos efetivos contra microrganismos tem chamado a atenção. Os produtos de origem vegetal não agridem a natureza e na Odontologia são utilizados com a vantagem de não apresentarem efeitos colaterais (Drumond *et al.*⁵ 2004). O gengibre tem sido alvo de estudos científicos na sua forma de extrato bruto, extrato etanólico e cetônico, porém alguns componentes desses extratos têm maior eficiência terapêutica do que outros, como é o caso da porção 6-gingerol e 6-paradol. (Jiang *et al.*⁹ 2006, Leonardo *et al.*¹³ 2001, Menezes *et al.*¹⁵ 2004).

O gengibre, cujo nome científico é *Zingiber officinale*, é uma erva anual que cresce em solos arenosos e secos, desenvolve-se em climas tropicais e subtropicais, tem sido largamente empregado na culinária como condimento, em bebidas e na medicina popular. Sua parte mais utilizada é o rizoma seco, onde se concentram seus componentes principais os quais são o óleo volátil e a oleoresina. A raiz é também caracterizada pelo seu sabor picante e um pouco amargo. O gengibre é rico em óleos voláteis, gingerol e shogaol. Shogaol é um produto da quebra do gingerol produzido durante a secagem e é duas vezes mais pungente que o gingerol (Peciulienė *et al.*¹⁷ 2001). O componente da raiz gengibre possui atividade antibacteriana sobre as bactérias *M. luteus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Burkholderia pseudomalle*, *Staphylococcus aureus* (Pereira¹⁸ 2002, Ruff *et al.*²¹ 2006). Os diarilheptanoides são compostos encontrados no gengibre responsáveis pela atividade antioxidante, antiinflamatória, antiproliferativa, antitoxidade hepática e anti-atividade de tumor (Amine Hanza¹ 2006, Jiang *et al.*⁸ 2007, Jiang *et al.*⁹ 2006).

O 6-gingerol é capaz de inibir a produção de prostaglandinas E2 e da interleucina-1 α , influenciando a resposta imunológica específica mediada, podendo ser utilizado em doenças autoimunes e inflamações crônicas (Lantz *et al.*¹² 2007, Waltimo *et al.*³⁰ 1999).

As propriedades descritas apontam para o uso promissor do gengibre na Odontologia. Entretanto, para utilizá-lo no interior dos canais radiculares, mesmo nos estudos *in vitro*, faz-se necessária a avaliação prévia em modelos que permitam avaliar se ele atua sobre microrganismos do canal radicular, na concentração inibitória mínima para que o mesmo tenha ação antimicrobiana. A proposta deste estudo é avaliar a atividade antimicrobiana do extrato glicólico de gengibre e do hipoclorito de sódio sobre *Candida albicans*.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo das amostras e suspensões de *Candida albicans*

Foram utilizados, neste estudo, 24 isolados bucais pertencentes ao laboratório de microbiologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos - UNESP e amostra padrão ATCC 18804 de *Candida albicans*. Todas as amostras foram semeadas em placas de Petri contendo ágar Sabouraud Dextrose (Himedia Laboratories Ltda. – Mumbai, Índia) e incubadas em estufa microbiológica a $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. A partir do crescimento nas placas, foi preparada uma suspensão, em solução salina fisiológica estéril contendo 10^8 céls/ml na escala de McFarland, (λ : 530 nm / OD: 1,258) com o auxílio espectralfotômetro (Micronal S/A – São Paulo, SP, Brasil).

O método utilizado neste estudo foi o teste de diluição em caldo. Para tanto, antes da colocação dos microrganismos, foram preparados tubos de vidro e em cada tubo foi colocado 0,6g de caldo Sabouraud e água destilada de acordo com a concentração de cada tubo. Foram realizadas diluições, em duplicata, de 4 concentrações das substâncias testadas: 50%, 25%, 12,5% e 6,25%. Em seguida, todos os tubos foram autoclavados.

As soluções utilizadas neste estudo foram Extrato Glicólico de Gengibre (Farmácia de Manipulação Terapêutica, São José dos Campos, São Paulo, Brasil) e solução de hipoclorito de sódio 2,5% (Farmácia de Manipulação Terapêutica, São José dos Campos, São Paulo, Brasil).

Após a esterilização dos tubos contendo caldo Sabouraud, em câmara de fluxo laminar (VecoFlow Ltda. – Campinas, São Paulo, Brasil), foi acrescentado em quantidades seriadas o extrato glicólico de Gengibre e solução de Hipoclorito de sódio 2,5% (Quadro 1). Em seguida, foram inoculados 0,1 ml da suspensão padronizada dos microrganismos de cada amostra em todos os tubos.

Todos os tubos apresentaram um total de 3 ml de volume final e 0,1 ml da suspensão dos microrganismos. Foi realizado o controle de todas as amostras testadas,

sem acrescentar Gengibre ou hipoclorito de sódio.

Os tubos permaneceram em estufa por 24 horas a 37°C .

Semeadura das amostras

Para determinar a atividade antimicrobiana das substâncias utilizadas, após 24 horas, foi verificada a turvação do caldo e semeadura em ágar Sabouraud. Depois, foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. A concentração de diluição inibitória mínima (DIM) e a concentração de diluição fungicida mínima (DFM) foram obtidas comparando-se o grau de turvação do meio de cultura teste em relação ao controle de crescimento, e o crescimento de colônias características nas placas, respectivamente.

Para avaliar a concentração de diluição inibitória mínima utilizou-se como parâmetro a análise visual do crescimento de colônias nas placas dos grupos experimentais comparados às do grupo-controle (sem agente antimicrobiano).

RESULTADO

Os dados revelam que o extrato glicólico de gengibre mostrou-se fungicida, em 20% das amostras, com DFM 6% e, em 80% das amostras o DFM foi equivalente a 12,5%. Enquanto a DIM foi 6,25% em 100% das amostras. O hipoclorito de sódio obteve DFM 6%, sendo, nesse caso, equivalente ao valor da DIM.

DISCUSSÃO

Testes *in vitro* de irrigantes endodônticos utilizando-se cultura microbiológica dependem da concentração da substância testada e da suscetibilidade do microrganismo. Nesses testes, a melhor substância é a que elimina os microrganismos em segundos, através da metodologia de contato direto, ou a que não permite o crescimento das cepas ou leveduras, através da metodologia de semeadura. A metodologia utilizada no presente estudo é amplamente aceita; testaram-se várias concentrações do

QUADRO 1 – Concentrações finais das substâncias-teste avaliadas.

Concentração	Caldo Sabouraud	Água destilada	Gengibre ou Hipoclorito de sódio
50%	0,6 g	1 ml	1 ml
25%	0,6 g	1,5 ml	0,5 ml
12,5%	0,6 g	1,75 ml	0,25 ml
6,25%	0,6 g	1,875 ml	0,125 ml

extrato glicólico de gengibre e do hipoclorito de sódio sobre a *Candida albicans*, através da semeadura em ágar Sabouraud. Esse teste faz-se necessário antes do emprego de novos produtos sobre microrganismos semeados nos canais radiculares e *in vivo*.

Candida albicans foi utilizada porque tem sido comumente identificada em canais radiculares infectados, com relatos de resistência ao preparo biomecânico e à medicação intracanal como o hidróxido de cálcio (Waltimo *et al.*²⁹ 2000, .

A interpretação dos resultados indica que o hipoclorito de sódio foi efetivo e superior ao extrato glicólico de gengibre, mesmo na menor concentração testada sobre a levedura, evidenciando o seu alto poder antimicrobiano. Inúmeras pesquisas estão em acordo com os resultados obtidos neste estudo, não sendo encontradas divergências do efeito fungicida do hipoclorito de sódio (Barroso *et al.*³ 2004, Estrela *et al.*⁷ 2003, Kademi *et al.*¹⁰ 2006, Khonvilai *et al.*¹¹ 2005, Raddiffe *et al.*²⁰ 2004, Siqueira *et al.*²⁵ 2000).

Samy²² 2005 confirmaram o alto poder antimicrobiano testando NaOCl 1% e 5% sobre bactérias gram-positivas, facultativas e fungos. No presente trabalho, o hipoclorito de sódio ficou em contato com a *Candida albicans* por 24 horas. Apesar de ser um tempo longo, outros trabalhos comprovam a eficácia do NaOCl utilizando metodologia com tempos curtos de exposição. Em 2007, Dumani *et al.*⁶ verificaram que cones de resilon contaminados com *C. albicans* puderam ser descontaminados com hipoclorito de sódio 1% e 5% durante 1 e 5 minutos. Resultado similar foi encontrado por Sena *et al.* 2006, quando testaram o hipoclorito de sódio 2,5% e 5% sobre diversos microrganismos durante 30 segundos, 5, 10, 15, 30 e 60 minutos. Ainda, Ayhan² (1999) propôs um estudo para testar o efeito antimicrobiano

das substâncias: NaOCl 5.25% e 0.5%, clorexidina 2%, álcool 21% e solução fisiológica sobre *Candida albicans*; e verificou que o NaOCl foi superior as demais, sendo que a concentração de 5.25% foi mais efetiva do que a concentração de 0.5%

É sabido dos efeitos bactericida e bacteriostático do gengibre sobre bactérias gram-positivas e facultativas (Drumond *et al.*⁵ 2004, Pereira¹⁸ 2002, Ruff *et al.*²¹ 2006). Entretanto, trabalhos científicos sobre sua ação fungicida não foram encontrados na literatura, já que a exploração da fitoterapia na endodontia é recente; impossibilitando correlacionar os dados obtidos nesta pesquisa com outros. Apesar da *C. albicans* ser resistente a diversos agentes (Valera *et al.*²⁸ 2001), no presente trabalho obtiveram-se ótimos resultados utilizando-se o extrato glicólico de gengibre; foi possível a eliminação total de *Candida albicans* na concentração de 6,25%, em algumas amostras. Esses resultados apontam para uma nova substância a ser testada para o tratamento endodôntico, que pode eventualmente ter ação antimicrobiana sobre outros microrganismos. Portanto, novos estudos devem ser realizados utilizando-se esse e outros fitoterápicos.

E, a partir dos resultados deste estudo, pesquisas utilizando o extrato glicólico de gengibre deverão ser realizadas, utilizando-se essa substância a partir da concentração de 12,5%.

CONCLUSÃO

No presente estudo foi possível concluir que:

O extrato glicólico de gengibre e o hipoclorito de sódio têm ação fungicida sobre *Candida albicans*, sendo que essa atividade foi superior com o hipoclorito de sódio.

A atividade fungicida do extrato glicólico de gengibre está limitada à sua concentração, mínimo 12,5%.

REFERÊNCIAS

1. Amin A, Hamza A. Effects of Roselle and Ginger on cisplatin induced reproductive toxicity in rats. *Asian J Androl* 2006 Sep; 8(5): 607-12.
2. Ayhan H, Sultan N, Çirak M, Ruhi MZ, Bodur H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganismis. *Int Endod J*. 1999 Mar; 32(2): 99-102.
3. Barroso LS, Habitante SM, Jorge AO, Faria IS. Microorganisms growth in endodontic citric-acid solutions with and without microbiological stabilizer. *J Endod*. 2004 Jan; 30(1): 42-4.
4. Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. *J Endod*. 2000 Dec; 26(12): 695-8.
5. Drumond MRS, Castro RD, Almeida RVD, Pereira MSV, Padilha WWN. Comparative study in vitro of the antibacterial activity from phytotherapeutic products against cariogenic bacteria. *Pesqui Bras Odontopediatria Clin Integr* 2004 jan-abr; 4(1): 33-8.
6. Dumani A, Yolda O, Isci AS, Koksall F, Kayar B, Polat E. Disinfection of artificially contaminated Resilon cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite at different time exposures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007 Mar; 103(3): e 82-5.
7. Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CR, Pécora JD, Souza Neto MD. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. *Braz Dent J* 2003; 14 (1): 58- 62.
8. Jiang H, Timmermann BN, Gang DR. Characterization and identification of diarylheptanoids in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) using high- performance liquid chromatography/ electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Spectrom* 2007; 21(4): 509-18.
9. Jiang X, Blair EY, McLachlan AJ. Investigation of the effects of herbal medicines on warfarin response in healthy subjects: a population pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling approach. *J Clin Pharmacol* 2006 Nov; 46(11): 1370-8.
10. Khademi AA, Mohammadi Z, Havaee A. Evaluation of the antibacterial substantivity of several intra-canal agents. *Aust Endod J* , 2006 Dec; 32(3): 112-5.
11. Khomvilai C, Karita S, Kashiwagi M, Yoshioka M. Fungicidal effects of sodium hypochlorite solution on *Saprolegnia* isolated from eggs of chum salmon *Oncorhynchus keta*. *Fish Sci*, 2005; 71: 1188-90
12. Lantz RC, Chen GJ, Sarihan M, Sólyom AM, Jolad SD, Timmerman BN. The effect of extracts from ginger rhizome on inflammatory mediator production. *Phytomedicine*, 2007 Feb; 14(2-3): 123-8.
13. Leonardo MR, Silva LA, Tanamoru Filho M, Bonifácio KC, Yoko-Ito I. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of Castor a oil- based irrigant. *J Endod* 2001 Dec; 27(12): 717-9.
14. Levy AS, Simon O, Shelly J, Gardener M. 6-Shogaol reduced chronic inflammatory response in the knees of rats treated with complete Freund's adjuvant. *BMC Pharmacol*, 2006; 6:12
15. Menezes MM, Valera MC, Jorge AO, Koga -Ito CY, Camargo CH, Mancini MN. *In Vitro* evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. *Int Endod J* 2004 May; 37(5): 311-9.
16. Ojewole JA. Analgesic, antiinflammatory and hypoglycaemic effects of ethanol extract of *Zingiber officinale* (*Roscoe*) *rhizomes* (*Zingiberaceae*) in mice and rats. *Phytother Res* 2006 Sep; 20(9): 764-72.
17. Peciulienė V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J*, 2001 Sep; 34(6): 429-34.
18. Pereira A C P. Efeito do *Zingiber officinale* sobre o processo de reparo de lesões ulceradas na mucosa bucal de ratos-análise clínica e morfológica-. Relatório apresentada ao PIBIC. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. 2002.

19. Policegoudra RS, Abiraj K, Channe Gowda D, Aradhy SM. Isolation and characterization of antioxidant and antibacterial compound from mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.) rhizome. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007 Jun1; 852(1-2): 40-8.
20. Radcliffe CE, Potouridou, Qureshi R, Hababbeh N, Qualtrough A, Worthington H, Drucker DB. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*, 2004 Jul; 37(7): 438-46.
21. Ruff M L, McClanaban S B, Babel B S. In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. *J Endod*, 2006 Apr; 34(2): 331-3.
22. Samy RP. Antimicrobial activity of some medicinal plants from India. *Fitoterapia*, 2005 Dec; 76(7-8): 697-9.
23. Sassone LM, Fidel R, Fidel S, Vieira M, Hirata R. The influence of organic load on the antimicrobial activity of different concentrations of NaOCl and chlorhexidine *in vitro*. *Int Endod J*, 2003 Dec; 36(12): 848-52.
24. Sena NT, Gomes BP, Vianna ME, Berber VB, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. *In vitro* antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine against selected single-species biofilms. *Int Endod J*, 2006 Nov; 39(11): 878-85.
25. Siqueira JF, Rôças I N, Favier A, Lima KC. Chemo-mechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. *J Endod*, 2000 Jun; 26(6): 331-4
26. Siqueira JR JF, Rôças IN, Lopes HP, Magalhães FAC, Uzeda M. Elimination of *Candida albicans* infection of the radicular dentin by intracanal medications. *J Endod*, 2003 Aug; 29(8): 501-4.
27. Tanomaru JM, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LA. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J*, 2003 Nov; 36(11): 733-9.
28. Valera MC, Rego JM, Jorge AO. Effect of sodium hypochlorite and five intracanal medications on *Candida albicans* in root canals. *J Endod*, 2001 Jun; 27(6): 401-3.
29. Waltimo TM, Orstavik D, Siren EK, Haapasalo MP. *In Vitro* yeast infection of human dentin. *J Endod*, 2000 Apr; 26 (4): 207-209.
30. Waltimo TM, Orstavik D, Sirén EK, Haapasalo MP. *In vitro* susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *Int Endod J*, 1999 Nov; 32(6): 421-9.
31. Zhou HL, Deng YM, Xie QM. The modulatory effects of the volatile oil of ginger on the cellular immune response *in vitro* and *in vivo* in mice. *J Ethnopharmacol*. 2006Apr; 105(1-2): 301-5.

Recebido em: 4/12/2008

Aceito em: 1/06/2009