



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA-UEPB
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

EVELINE ANGÉLICA LIRA DE SOUZA SALES ROCHA

**ESTUDO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS
VEGETAIS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO CONTRA BACTÉRIAS
RELACIONADAS À INFECÇÃO ENDODÔNTICA**

CAMPINA GRANDE-PB

JUNHO-2012

EVELINE ANGÉLICA LIRA DE SOUZA SALES ROCHA

**ESTUDO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS
VEGETAIS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO CONTRA BACTÉRIAS
RELACIONADAS À INFECÇÃO ENDODÔNTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Odontologia da Universidade Estadual
da Paraíba como requisito à obtenção do título
de Cirurgiã-Dentista.

Orientadora: Edja Maria Melo de Brito Costa.

CAMPINA GRANDE – PB

JUNHO/2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

R672e

Rocha, Eveline Angélica Lira de Souza Sales.

Estudo in vitro da atividade antimicrobiana de extratos vegetais do semiárido brasileiro contra bactérias relacionadas à infecção endodôntica [manuscrito] / Eveline Angélica Lira de Souza Sales Rocha. – 2012.
26 f.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2012.

“Orientação: Profa. Dra. Edja Maria Melo de Brito Costa, Departamento de Odontologia”.

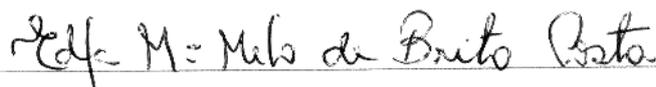
1. Plantas medicinais. 2. Atividade antimicrobiana.
3. Medicamento de uso endodôntico. I. Título.

21. ed. CDD 615.321

EVELINE ANGÉLICA LIRA DE SOUZA SALES ROCHA

**ESTUDO *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS
VEGETAIS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO CONTRA BACTÉRIAS
RELACIONADAS À INFECÇÃO ENDODÔNTICA**

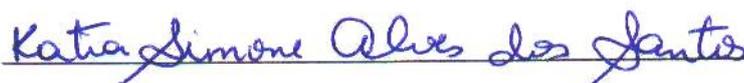
APROVADA EM: 13/ 06/ 2012



Edja Maria Melo de Brito Costa



Ana Cláudia Dantas de Medeiros



Kátia Simone Alves dos Santos

*Dedico esse trabalho à minha mãe,
Ângela Maria, que tornou possível a
concretização do meu primeiro grande
sonho: ser Cirurgiã-Dentista!*

Agradecimentos

Terminados cinco bem vividos e intensos anos de graduação, após outros anos de estudos e expectativas diante dos vestibulares para ingressar nesse curso, é preciso agradecer às pessoas mais importantes nessas fases da minha vida.

Sem dúvida, a pessoa mais importante nesse contexto, é Aquele que foi meu refúgio, minha fortaleza, minha torre forte, meu amigo, meu Deus Jeová, que me conferiu a força além do normal para realizar tudo que eu considere impossível.

Já aqui na Terra, se há alguém que merece todo o crédito por essa conquista, é aquela que me trouxe à vida, que me ensinou tudo, que me construiu e edificou ao longo desses anos, que me fez querer ser uma pessoa responsável e vencedora para ser igual a ela. Aquela que deu todos os subsídios para a concretização desse sonho fossem eles, financeiros ou emocionais, aquela que é a maior das incentivadoras, que é minha referência, meu espelho, minha fã, minha musa, meu exemplo: minha MÃE. Ângela Maria, se eu um dia puder ser metade do que você representa na vida das pessoas que a cercam, estarei satisfeita, porque terei sido muito!

É claro que preciso agradecer aos meus primeiros professores que foram meus facilitadores ao construir a base necessária para ter a oportunidade de fazer um curso de graduação de privilegiados numa faculdade pública.

Agradecer à minha querida, amorosa e unida família, em especial, minhas irmãs, meus primos, tios e agregados, que contribuem sempre com sua torcida, seus abraços e beijos fortes, seu incentivo.

Obrigada a minha turma de faculdade, pequena, mas tranquila, que permitiu que esses cinco anos fossem mais fáceis e divertidos. Obrigada a Ivison Limeira, meu grande companheiro científico, meu parceiro, meu consultor, aquele que me faz querer sempre avançar, que me faz acreditar que é possível ser bom, ainda na graduação.

Preciso tecer um agradecimento especial àqueles que me formam neste momento, Cirurgiã-Dentista. A todos aqueles que foram meus mestres desde o primeiro ano de curso, que me ensinaram, que me coordenaram e orientaram nas pesquisas e nas extensões. Obrigada àqueles que me confiaram responsabilidades e que me fizeram amadurecer como profissional, como futura pesquisadora, mas principalmente como pessoa. Obrigada a Ana Flávia Granville

que me ensinou os primeiros passos para ser uma cientista, que me apresentou aquilo que viria a ser minha grande motivação profissional. Obrigada a Francineide Guimarães, Raquel Gomes, Isabella Arruda, Silvana Mahon, Gustavo Godoy que mostraram a beleza de ser Cirurgião-Dentista que cuida de pessoas, não apenas de dentes. Obrigada a Kátia Simone e Rodolpho Dias que foram uma ponte entre mim e uma das grandes paixões da minha vida, a Endodontia, e que me fizeram ter certeza de que se há alguma coisa que quero fazer até o resto dos meus dias é ser mestres como eles são!

Obrigada à minha querida orientadora Edja Costa, que é indescritível. Edja, “Tia Edja”, ou mais comumente chamada de “chefinha”, muito obrigada pela orientação amorosa. Não conto nos dedos das mãos as inúmeras vezes em que eu disse “não tenho uma orientadora, tenho uma segunda mãe”. Obrigada por cobrar, por esperar sempre o melhor, pela compreensão, pela confiança, pela autonomia que me conferiu, pela oportunidade de viver novos desafios, de produzir, de publicar, de ser premiada, de me sentir competente!

Agradecer também, é claro, àquela que não leva o nome de Co-orientadora oficialmente, mas leva no coração, Ana Cláudia Medeiros, não tenho palavras para dizer o quanto foi importante conviver com você e sua equipe. Obrigada por ensinar, por ser sempre acessível, pela humildade com que me corrige, pelo perfeito gerenciamento do laboratório de pesquisa que me permitiu chegar a essa conclusão de curso, obrigada por nos acolher, mesmo sabendo que nós, alunos de odontologia, não temos nada a ensinar, só a aprender. Obrigada por não ser apenas professora, mas ser amiga.

Obrigada à minha dupla de iniciação científica, Anne Virgynnia Rolim, que foi minha grande parceira neste trabalho. Duas meninas atrevidas, que nada sabiam de fitoterapia ou microbiologia, mas aceitaram o desafio da corajosa “chefe”. Erraram muito até encontrar a técnica que seria mais adequada, mas que tiveram também grandes alegrias. Querida Anne, foi maravilhoso trabalhar com você. Ah, se todos os meus futuros colegas de trabalho forem assim, a vida lá fora não será nada difícil! Obrigada pelo seu compromisso!

E não há como não agradecer à equipe do Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos (LABDEM): Deysiane Oliveira, Layane Alencar, Cleildo Santana, Karla Monik, Felipe Hugo, Alinne Barbosa, Fernanda Nóbrega, Jocimar Santos, René Monteiro, Ravelly Lucena, Thiago Pereira, Elaine Laíse, Fernando Ramos, Lidiane Correia, Paulo César e os companheiros da Química. É muito bom poder trabalhar com essa equipe que além de comprometida é divertida. É muito bom brincar de ser farmacêutica ao aprender com vocês!

Agradecer também às mais recentes companheiras de trabalho, mas não menos queridas, Renally Lima e Susana Régis, que não permitiram que minha ausência necessária nos últimos momentos de curso atrapalhasse o desenrolar dos nossos trabalhos. Obrigada pela compreensão e pela competência.

Obrigada aos amigos-irmãos, queridos, Socorro e Lucas, Evandro e Rafaella, Maria José, Verônica, Moacir, Diégila, Disraele, Isamar, Adma e Ismar e tantos outros que me ajudaram a me certificar cada dia, do que é realmente importante em minha vida, e de quais são minhas prioridades.

E claro, obrigada ao meu grande amor, Francisco Cordão, que me apoiou e me apoia nos momentos mais difíceis, mais alegres e mais decisivos da minha vida. Obrigada por ser meu amor, meu irmão, meu pai, meu avaliador, meu professor, meu parceiro, meu amigo.

Agradecer a todos vocês que foram e são tão importantes na minha vida, me faz sentir um misto de alegria e saudade de todos os momentos que vivi com todos aqui citados. No entanto, assim como deixam saudades, deixam a certeza de que as próximas etapas a serem vencidas, em muito serão baseadas nas vitórias que vocês me ajudaram a conquistar!

Obrigada, de coração, a todos!

**Estudo *in vitro* da atividade antimicrobiana de extratos vegetais do semiárido brasileiro
contra bactérias relacionadas à infecção endodôntica**

Eveline Angélica L. de S. S. Rocha¹, Anne Virgynnia O. R. de Carvalho¹, Susana R. A. de Andrade², Ana Cláudia Dantas de Medeiros³, Dilma Maria de B. M. Trovão⁴, Edja Maria Melo de Brito Costa³

¹Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil

²Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil

³Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil.

⁴Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil

RESUMO

Com o aumento dos microrganismos resistentes às substâncias antimicrobianas já conhecidas, vários extratos de plantas medicinais já foram testados com a finalidade de procurar novos compostos com atividade antimicrobiana reconhecida. Este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de diferentes extratos vegetais contra bactérias relacionadas à infecção endodôntica. Foram testados os extratos hidroalcóolicos das espécies *Schinus terebintifolius* Raddi (aroeira-da-praia), *Syderoxylum obtusifolium* Roem e Schult (quixabeira), *Bauhinia forficata* Linn (mororó), *Anadenanthera colubrina* Brenan (angico), *Spondias tuberosa* Arruda (umbuzeiro), *Maytenus rigida* Mart (bom-nome), *Tabebuia pentaphylla* Vell. (ipê rosa) e *Guapira Opposita* Vell (joão-mole), além da clorexidina 0,12%, contra o *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Foram realizados os ensaios antimicrobianos por disco difusão em ágar e por microdiluição. Todos os extratos analisados apresentaram atividade antimicrobiana contra pelo menos uma espécie bacteriana. O *Tabebuia pentaphylla* Vell. foi o extrato que apresentou atividade em menores concentrações e a técnica da microdiluição teve melhor sensibilidade. Todos os extratos

analisados podem representar futuramente potentes fontes de substâncias de uso endodôntico, com atividade antimicrobiana.

PALAVRAS-CHAVE: Plantas Medicinais, Extratos Vegetais, Atividade Antimicrobiana, Medicamento de Uso Endodôntico.

In vitro antimicrobial activity of plant extracts against bacteria of the Brazilian semiarid region related to endodontic infection

ABSTRACT

With the increase in microorganism resistance to antimicrobial substances already known various extracts of medicinal plants have been tested in order to search for new compounds with known antimicrobial activity. This study aims to evaluate the antimicrobial activity of different plant extracts against bacteria related to endodontic infection. Hydroalcoholic extracts were tested species *Schinus terebintifolius* Raddi (aroeira-da-praia), *Syderoxylum obtusifolium* Roem and Schult (quixabeira), *Bauhinia forficata* Linn (mororó), *Anadenanthera colubrina* Brenan (angico), *Spondias tuberosa* Arruda (umbuzeiro), *Maytenus rigida* Mart (bom nome), *Tabebuia pentaphylla* Vell. (ipê rosa) and *Guapira opposita* Vell (joão mole), and 0.12% chlorhexidine against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Antimicrobial assays were performed by disk agar diffusion and microdilution. All extracts analyzed showed antimicrobial activity against at least one bacterial species. The *Tabebuia pentaphylla* Vell. was the extract showed activity at lower concentrations and microdilution technique had better sensitivity. All extracts analyzed may represent potent sources of future use of endodontic substances with antimicrobial activity.

KEYWORDS: Medicinal Plants, Plant extracts, Antimicrobial Activity, Drug Use Endodontic.

1. INTRODUÇÃO

As infecções endodônticas persistentes, resultantes da resistência bacteriana às substâncias utilizadas no tratamento endodôntico, mostra a necessidade em se buscar novas moléculas antimicrobianas a partir de outras fontes, seja natural ou sintética (NAIR *et al.*, 1990, SIQUEIRA Jr., 2001, LEITÃO *et al.*, 2006, SILVA *et al.*, 2007, 2008; COUTINHO *et al.*, 2008).

Apesar do preparo químico-mecânico ou biomecânico assumir importante papel no sucesso da terapia endodôntica (MÔNICA, FRÖNER, 2006), a utilização de uma medicação intracanal com ação antimicrobiana torna-se necessária para potencializar a desinfecção do sistema de canais radiculares (TANOMARU *et al.*, 2003, ASSED, 2005). Vários trabalhos têm sido efetuados na tentativa de se obter um medicamento que elimine as bactérias ou inative suas endotoxinas em dentes com lesão periapical crônica. Dentre os medicamentos intracanaís utilizados destaca-se o hidróxido de cálcio que tem sido a primeira escolha pela maioria dos endodontistas (ASSED, 2005, (PEREIRA *et al.*, 2009). Contudo, estudos mostram que o hidróxido de cálcio é pouco efetivo sobre algumas cepas bacterianas, particularmente sobre o *Enterococcus faecalis* (EVANS *et al.*, 2002; KAYAOGLU; ORSTAVIK, 2004; FERNANDES *et al.*, 2006; GOMES *et al.*, 2006; ONÇAG *et al.*, 2006; SATHOM *et al.*, 2007), microrganismo mais comumente isolado de dentes com infecções pós-tratamento endodôntico (SEDGLEY *et al.*, 2005).

Nos últimos anos tem sido observado um crescente interesse da comunidade científica pelas plantas medicinais e pela fitoterapia, por apresentarem potenciais terapêuticos e econômicos, visados especialmente pela indústria farmacêutica, que realiza a prospecção de novos produtos, com menos efeitos indesejáveis do que os fármacos já existentes (MARTÍNEZ GUERRA *et al.*, 2000, BRANDÃO *et al.*, 2006, LIMA *et al.*, 2006, MEDEIROS *et al.*, 2007, HENDRY *et al.*, 2009). Diante desta premissa, este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de diferentes extratos vegetais produzidos a partir de plantas medicinais do semiárido brasileiro contra microrganismos associados à infecção endodôntica, utilizando o método da disco difusão em ágar e a técnica da microdiluição.

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1 Material vegetal

Foram coletadas folhas e/ou cascas de espécies de plantas encontradas no semiárido brasileiro, sendo elas: *Schinus terebintifolius* Raddi (aroeira-da-praia), *Syderoxylum obtusifolium* Roem e Schult (quixabeira), *Bauhinia forficata* Linn (mororó), *Anadenanthera colubrina* Brenan (angico), *Spondias tuberosa* Arruda (umbuzeiro), *Maytenus rigida* Mart (bom-nome), *Tabebuia pentaphylla* Vell. (ipê rosa) e *Guapira Opposita* Vell (joão-mole). O material foi limpo, acondicionado em sacos de papel e seco em estufa de circulação de ar a 40 °C.

2.2 Preparação dos Extratos

Para obtenção dos extratos foi utilizado o processo de maceração, em temperatura ambiente, utilizando como solvente o álcool etílico 70%, respeitando as recomendações da Farmacopéia Brasileira IV edição (1988).

2.3 Atividade Antimicrobiana

2.3.1 Cepas Testadas

Os microorganismos utilizados foram *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922).

O inóculo microbiano foi padronizado em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 625 nm de modo a obter a transmitância de 85 %, conforme determina a CLSI- Clinical and Laboratory Standards Institute (2010).

2.3.2 Método Difusão em Ágar

A suspensão bacteriana preparada foi usada para inocular as placas de ágar Müeller Hinton, com auxílio de *swab* estéril pela técnica do esgotamento. Foram adicionados seis discos de papel estéreis por placa. Cada disco recebeu 10 µL de extrato previamente diluído. A clorexidina 0,12% (substância padrão) foi testada utilizando o mesmo volume. As placas foram mantidas em estufa de cultura a 37°C por 24 horas, momento em que foi realizada a leitura dos halos de inibição, valendo-se de duas medidas perpendiculares entre si, utilizando

um paquímetro digital. O experimento foi realizado em câmara de fluxo laminar e seguiu a metodologia sugerida pelo CLSI (2010).

2.3.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos vegetais foi realizada através da técnica da microdiluição em caldo, proposta pelo CLSI (2010). Inicialmente, foram distribuídos 100 µL de caldo Müeller Hinton duplamente concentrado nos orifícios das placas de microdiluição contendo 96 cavidades. Em seguida, foram distribuídos 100 µL do extrato no primeiro orifício da placa, e depois realizadas diluições seriadas, a partir da retirada de uma alíquota de 100 µL da cavidade mais concentrada para a cavidade sucessora. Nos orifícios de cada coluna foram dispensadas alíquotas de 10 µL do inóculo correspondente a cada cepa ensaiada. Como controle negativo, foi verificada viabilidade das cepas ensaiadas, com a inoculação da suspensão bacteriana apenas no meio de cultura. Ainda, realizou-se controle positivo a partir da utilização da clorexidina a 0,12%. Os ensaios foram desenvolvidos em duplicata e em câmara de fluxo laminar. As microplacas foram incubadas a 36°C durante 24 horas. A leitura para determinação da CIM de cada extrato sobre as cepas foi feita a partir do método visual, onde foi considerada a formação ou não de aglomerados de células no fundo da cavidade da placa. Dessa forma, considerou-se como CIM, a menor concentração do produto em teste capaz de produzir inibição visível sobre o crescimento das cepas utilizadas nos ensaios microbiológicos. Para confirmação da presença de microrganismos viáveis nas concentrações não inibitórias, foi dispensada uma alíquota de 10 µL do corante 2, 3, 5 trifetil cloreto de tetrazólio (Sigma-Aldrich®, USA) em todas as cavidades da placa (inclusive nos controles), 24 horas após a incubação. Isto tornou possível distinguir as amostras vivas, coloridas de vermelho, daquelas mortas, que mantiveram a sua cor azul.

2.3.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CBM)

Após determinação da CIM, uma alíquota da concentração correspondente à inibitória e às duas concentrações imediatamente mais concentradas, e os controles positivos foram subcultivadas em placas de ágar Müeller Hinton, desprovido de qualquer antimicrobiano. Após 24 horas de incubação a 36 °C, as leituras das CBMs foram realizadas com base no crescimento dos controles, sendo considerada CBM a menor concentração do extrato que impediu o crescimento visível do subcultivo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela técnica difusão em ágar verificou-se atividade antimicrobiana de cinco tipos de extratos, contra pelo menos uma das espécies bacterianas estudadas. O extrato da folha de *T. pentaphylla* Vell. foi o único que apresentou atividade contra as três espécies de bactérias (Tabela 1).

Tabela 1: Média dos halos de inibição (mm) dos extratos hidroalcoólicos, pela técnica difusão em ágar.

EXTRATO	<i>Staphylococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Escherichia</i>
	<i>aureus</i>	<i>faecalis</i>	<i>coli</i>
	Zonas de inibição (mm)	Zonas de inibição (mm)	Zonas de inibição(mm)
<i>S. terebintifolius</i> Raddi*	0,0	0,0	0,0
<i>S. terebintifolius</i> Raddi* *	0,0	8,9	0,0
<i>S. obtusifolium</i> Roem et Schult.*	0,0	0,0	0,0
<i>S. obtusifolium</i> Roem et Schult.* *	0,0	0,0	0,0
<i>B. forficata</i> Linn*	0,0	0,0	0,0
<i>A. colubrina</i> Brenan*	8,3	0,0	0,0
<i>S. tuberosa</i> Arruda*	0,0	0,0	0,0
<i>T. pentaphylla</i> Vell*	8,4	0,0	8,3
<i>T. pentaphylla</i> Vell* *	10,0	7,3	13,2
<i>G. opposita</i> Vell*	0,0	0,0	0,0
<i>G. opposita</i> Vell* *	0,0	0,0	8,0
Clorexidina 0,12%	14,3	12,4	13,0

*Extrato da casca da planta

**Extrato da folha da planta

Pela técnica da microdiluição em caldo todos os extratos analisados apresentaram atividade antimicrobiana contra o *S. aureus*. Por outro lado, o *E. faecalis* apresentou resistência apenas para o *S. terebintifolius* Raddi e *S. obtusifolium* Roem e Schult (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição da CIM e CBM dos extratos vegetais contra as espécies bacterianas estudadas.

Extrato (µl/µl)	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>E. coli</i>	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>S. terebintifolius</i> Raddi*	6,25	6,25	R	R	6,25	12,50
<i>S. terebintifolius</i> Raddi**	6,25	6,25	R	R	3,13	6,25
<i>S. obtusifolium</i> Roem et Schult *	3,13	3,13	R	R	6,25	12,50
<i>S. obtusifolium</i> Roem et Schult **	12,50	12,50	R	R	12,50	R
<i>B. forficata</i> Linn*	12,50	12,50	12,50	50,00	R	R
<i>A. colubrina</i> Brenan*	1,56	3,13	1,56	R	25,00	12,50
<i>S. tuberosa</i> Arruda*	3,13	6,25	0,78	R	1,56	3,13
<i>T. pentaphylla</i> Vell*	3,13	12,50	1,56	0,78	3,13	3,13
<i>T. pentaphylla</i> Vell**	0,78	0,78	1,56	3,13	1,56	3,13
<i>G. opposita</i> Vell*	12,50	50,00	6,25	6,25	6,25	25,00
<i>G. opposita</i> Vell**	12,50	25,00	12,50	25,00	12,50	25,00

*Extrato da casca da planta/ **Extrato da folha da planta

As pesquisas com produtos naturais no meio odontológico têm aumentado nos últimos anos devido à busca por novos produtos com maior atividade terapêutica, menor toxicidade, melhor biocompatibilidade e menor custo. A aceitação popular da fitoterapia reflete boas perspectivas no mercado de produtos odontológicos que contém substâncias naturais. Vale

salientar que estes produtos podem ser introduzidos no mercado, desde que estudos laboratoriais e clínicos específicos comprovem sua eficácia (AGRA, 2007; OLIVEIRA, 2005).

Várias substâncias têm sido utilizadas na medicina popular como agentes anti-sépticos, e as que mais se destacam na odontologia são *S. terebintifolius*, *A. mellifera* e *P. granatum*, devido às suas propriedades terapêuticas e pelo fato de possuírem uso bastante difundido dentro da medicina popular, no tratamento de diversas afecções bucais (SOARES, 2006).

Destas, a *S. terebintifolius* Raddi também foi alvo deste estudo, no entanto, o extrato da folha desta planta apresentou atividade contra o *E. faecalis* apenas na técnica da disco-difusão em ágar, resultados semelhantes foram encontrados por. Na técnica da microdiluição apresentou atividade somente contra as cepas padrão de *S. aureus* e *E. coli*. Destas, a *S. terebintifolius* Raddi também foi alvo deste estudo, no entanto, o extrato da folha desta planta apresentou atividade contra o *E. faecalis* apenas na técnica da disco-difusão em ágar. Tendo em vista que Costa et al. (2010) também encontraram resultados semelhantes da planta no método de disco difusão em ágar, novas investigações são necessárias pois a microdiluição em caldo parece ser mais sensível em relação à disco difusão, uma vez que nesta última há maior dificuldade de difusão do extrato no meio de cultura, como já foi demonstrado por Alves et al. (2008).

Quanto aos resultados dessa planta na microdiluição, destaca-se que apresentou atividade somente contra as cepas padrão de *S. aureus* e *E. coli*. Lima et al (2006) observaram atividade da casca e do caule da *S. terebintifolius* Raddi contra o *S. aureus*, mas não encontraram para a *E.coli*. Essas diferenças nos resultados podem ser atribuídas a uma diversidade de fatores, que podem modificar a substância ativa da planta, interferindo diretamente nas suas propriedades. Em estudo pioneiro, Franz (1982) mostrou que o conteúdo das substâncias ativas de plantas medicinais cultivadas pode ser afetado por vários fatores, tais como: variação genética e transmissão hereditária das substâncias secundárias (geralmente o princípio ativo); variabilidade morfo e ontogenética, por exemplo, diferenças no conteúdo de substâncias ativas em várias partes da planta e durante seu desenvolvimento; influências ambientais (localização, fertilização, clima, altitude), entre outras.

Os extratos obtidos da folha e casca da *S. obtusifolium* Roem e Schult não apresentaram resultados satisfatórios neste estudo, o que sugere novas investigações, pois são escassos os estudos com esta planta e divergentes. Costa et al. (2010) detectaram atividade antimicrobiana da casca deste vegetal, nas concentrações de 100 % e 50% contra o *E.faecalis*.

O *A. colubrina* Brenan, nas duas técnicas utilizadas para avaliação antimicrobiana, apresentou expressiva atividade contra o *S.aureus*, corroborando os achados de Palmeira et al. (2010) e de Dantas et al. (2010). Por outro lado, não apresentou atividade satisfatória contra o *E.faecalis*, foco do estudo para possível produção de um antimicrobiano, visto que foi observada apenas atividade inibitória e não bactericida.

Quando utilizou-se a técnica da microdiluição, as oito espécies de vegetais avaliadas apresentaram atividade antimicrobiana contra o *S. aureus*. Pela técnica disco difusão em ágar, apenas *A. colubrina* Brenan e *T. pentaphylla* Vell. apresentaram atividade frente a este microorganismo. A *E. coli*, na técnica da disco difusão em ágar, apresentou sensibilidade apenas para a os extratos da folha e da casca de *T. pentaphylla* Vell., enquanto que na técnica de microdiluição apenas o extrato da folha do *B. forficata* Linn não apresentou atividade. Quanto ao *E. faecalis*, na técnica de disco difusão em ágar, apenas os extratos das folhas da *S. terebintifolius* Raddi e de *T. pentaphylla* Vell. apresentaram atividade, enquanto que, na técnica de microdiluição, os extratos de *B. forficata* Linn, *A. colubrina* Brenan, *S. tuberosa* Arruda, *T. pentaphylla* Vell. e *G. Opposita* Vell. apresentaram atividade antimicrobiana. Considerando que foram utilizados os mesmos extratos, esses diferentes resultados podem ser atribuídos às diferenças de sensibilidades das técnicas utilizadas (ALVES et al., 2008).

Os resultados produzidos pelo extrato do *G. opposita* Vell. coincidem com aqueles encontrados por Pescarini et al. (2011), que comprovaram que esta planta tem atividade antimicrobiana contra bactérias gram-negativas, como a *E. coli*.

Não foram encontrados trabalhos avaliando a atividade antimicrobiana da *T. pentaphylla* Vell. No entanto, os resultados encontrados neste estudo foram expressivos frente a todos os microorganismos, na técnica de microdiluição, indicando, assim, que esta planta é promissora para o estudo de desenvolvimento de novos produtos de uso odontológico.

CONCLUSÃO

Todos os extratos analisados apresentaram atividade antimicrobiana contra pelo menos uma espécie bacteriana, com destaque para a *T. pentaphylla* Vell, sendo a técnica da microdiluição a de maior sensibilidade.

AGRADECIMENTO

Ao PIBIC/CNPq/UEPB pelo suporte financeiro e ao LABDEM (Laboratório de Desenvolvimento de Medicamentos) da UEPB pela realização das análises.

REFERÊNCIAS

AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Rev Bras Farmacogn**, v.17, n.1, p.114-40, 2007.

ALVES, E.G. et al. Estudo comparativo de técnicas de *screening* para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Quim. Nova**, v.31, n.5, p.1224-1229, 2008.

ASSED, S. Odontopediatria: bases científicas para a prática clínica. São Paulo: Artes Médicas, 2005.

BRANDÃO, M. G. L. et al. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Rev Bras Farmacogn**, n.16, v.3, p.408-20, 2006.

COSTA, E.M.M.B. *et al.* Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. **J Bras Patol Med Lab**, v.46, n.3, p.175-180, 2010.

COUTINHO, H.D.M.. et al. *In vitro* anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-MRSA strains. **Rev Bras Farmacogn**, v.18; p.670-675; 2008.

DANTAS, J.P. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos hidroalcoólico de angico sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. **RBAC**, v.42, n.1, p.33-37, 2010.

EVANS, M. et al. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. **Int Endod J**, v.35, p.221-8, 2002.

FERNANDES, A.V.; GIRO, E.M.A.; COSTA, C.A.S. Resposta dos tecidos periapicais de dentes de cães com necrose pulpar e reação periapical crônica ao tratamento endodôntico utilizando diferentes pastas obturadoras. **Ver Odontol UNESP**, v.35, n.1, p.29-39, 2006.

FRANZ, D. Apoth. Zig, v.122, p.1413, 1982.

GOMES, B.P. et al. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.102, n.4, p. 544-50, 2006.

HENDRY, E.R. et al. Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1,8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. **J Antimicrob Chemother**, v.64, n.6, p.1219-25, 2009.

KAYAOGLU, G.; ORSTAVIK, D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. **Crit Rev Oral Biol Med**, v.15, p.308-20, 2004.

LEITÃO S.G. et al. Screening of Central and South American plant extracts for antimycobacterial activity by the Alamar Blue test. **Rev Bras Farmacogn**, v.16, p. 6-11, 2006.

LIMA, M.R.F. et al. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **J Ethnopharmacol**, v.105, n.1-2; p.137-147; 2006.

MARTÍNEZ GUERRA, M.J. et al. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80 por ciento de *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal)/23. **Rev Cuba Plantas Med**, v.5, n.1, p.23-5, 2000.

MEDEIROS, K. C. P. et al. Effect of the activity of the Brazilian polyherbal formulation: *Eucalyptus globulus* Labill, *Peltodon radicans* Pohl and *Schinus terebinthifolius* Radd in inflammatory models. **Rev Bras Farmacogn**, v.17, n.1, p. 23-8, 2007.

MÔNICA C.M.; FRÖNER, I.C. A scanning electron microscopic evaluation off different root canal irrigation regimens. **Braz Oral Res**, v. 20, n3, p.235-40, 2006.

NAIR, P.N. et al. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. **J Endod**, v.16, n.12, p.580-8, 1990.

OLIVEIRA, A.B.; ALMEIDA, E.R.; SILVA FILHO, A.A. Estrutura química e atividade biológica de naftoquinonas de Bigniaceas brasileiras. **Quimica Nova**, v.13 n.4, p.302-307, 2005.

ONÇAG, O.; GOGULU, D.; UZEL, A. Efficacy of various intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* in primary teeth: an in vivo study. **J Clin Pediatr Dent**, v.30, n.3, p. 233-7, 2006.

PALMEIRA, J.D. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos hidroalcoólico de angico sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. **RBAC**, v. 42, n.1, p.33-37, 2010.

PEREIRA L. et al. Avaliação do pH de substâncias utilizadas como medicação intracanal em diferentes veículos. **Rev Sul-Bras Odontol**. v.6, n.3, p.243-7, 2009.

PESCARINI, J.M. et al. Potencial antibacteriano de extratos e frações de *Guapira opposita* E&NBSP; *Guapira graciliflora*. 25º Congresso Brasileiro de Microbiologia; Porto de Galinhas-PE. ANAIS do 25º CBM ISSN 2176-414X. 2009.

SEDGLEY, C.M. et al. Quantative real-time PCR detection of oral *Enterococcus faecalis* in humans. **Arch Oral Biol**, v.50, p.575-83, 2005.

SILVA, JG et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Rev Bras Farmacogn** v.17, n.4, p.572-577, 2007.

SIQUEIRA, JF Jr. Etiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. **Int Endod J**, v.34, n.1, p.1-10, 2001.

SOARES, D.G.S. et al. Susceptibilidade *in vitro* de bactérias bucais à tinturas fitoterápicas. **Rev Odonto Ciênc**, v.21, n.53, p.232-7, 2006.

TANOMARU, J.M. et al. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. **Int Endod J**, v.36, n11, p.733-9, 2003.

ANEXO - NORMAS DA REVISTA

Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial

O Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML), continuação do Jornal Brasileiro de Patologia, de periodicidade bimestral (fevereiro, abril, junho, agosto, outubro e dezembro), é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), da Sociedade Brasileira de Patologia (SBP) e da Sociedade Brasileira de Citopatologia (SBC). É indexado no Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), no Periódica e no Chemical Abstracts e é integrante da base de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO). Destina-se à publicação de trabalhos científicos que contribuam para o desenvolvimento da área de Medicina Laboratorial e aceita as seguintes categorias: artigos originais, de revisão, de atualização, experimentais, relatos de caso, comunicações breves e cartas aos editores. Os trabalhos podem ser submetidos nos idiomas português, inglês ou espanhol

Análise dos trabalhos

O manuscrito recebido será enviado para, pelo menos, dois avaliadores independentes, pares científicos, de renome e com conhecimento específico na área contemplada pelo artigo. Após análise pelos avaliadores, o editor-chefe do JBPMML entrará em contato com o autor principal comunicando os passos a serem seguidos na aceitação do trabalho para publicação ou sua eventual rejeição.

Direitos autorais

Os autores devem enviar um termo de responsabilidade, assumindo formalmente a autoria do trabalho e oficializando a transferência de direitos autorais (copyright transfer statement). O Sistema de Gestão de Publicações (SGP) do JBPMML possui o modelo desse documento e as instruções para preenchê-lo e enviá-lo.

Ética

Estudos realizados com seres humanos, incluindo órgãos e/ou tecidos isoladamente, bem como prontuários clínicos ou resultados de exames clínicos, deverão estar de acordo com a

Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (<http://www.bioetica.ufrgs.br/res19696.htm>). O trabalho a ser publicado deverá ser acompanhado de certificado de aprovação do Comitê de Ética da Instituição onde foi realizada a pesquisa, em consonância com a Declaração de Helsinki, 1989 (<http://www.bioetica.ufrgs.br/helsin4.htm>).

Nos trabalhos experimentais envolvendo animais, devem ser respeitados os princípios éticos de experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e as normas estabelecidas no Guide for Care and Use of Laboratory Animals (Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council, Washington, D.C., 1996). As drogas e substâncias químicas eventualmente utilizadas na realização do trabalho devem ser identificadas com precisão. Não devem ser utilizados nomes ou iniciais do paciente nem informados nomes comerciais, de empresas e/ou registros de hospitais.

Resumos e unitermos

Independentemente do idioma no qual o trabalho foi escrito, devem constar dois resumos: um em português (Resumo) e outro em inglês (Abstract). Os resumos devem identificar os objetivos, os procedimentos e as conclusões do trabalho (máximo de 250 palavras para artigos originais, artigos de revisão e artigos de atualização; e máximo de 100 palavras para relatos de caso e comunicações breves). Caso o trabalho tenha sido escrito em espanhol, deverá haver um resumo também nesse idioma. Os unitermos, palavras que representam o assunto tratado no trabalho, devem ser em número de três a seis, utilizando o vocabulário controlado Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) da BIREME, acrescidos de outros termos, quando necessário. Devem ser apresentados em português e inglês. Caso o trabalho tenha sido escrito em espanhol, deverá haver descritores também nesse idioma.

Agradecimentos

Devem ser breves, diretos e dirigidos apenas à pessoa ou à instituição que contribuiu substancialmente para a elaboração do trabalho. Devem ser incluídos após as conclusões e antes das referências bibliográficas.

Estrutura do texto

Artigos originais

São contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original, inédita, que possam ser replicados ou generalizados. Os artigos podem conter até 4 mil palavras. A sua estrutura formal deve seguir o esquema de apresentação do texto para esse tipo de artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências Bibliográficas.

O uso de subtítulos é recomendado, particularmente na Discussão. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser claramente apontadas. Sugere-se o detalhamento do tópico Material e Método. Para esses artigos, exige-se a apresentação de resumos estruturados em português e inglês, com cabeçalhos obedecendo à apresentação formal do artigo: Introdução, Objetivos, Material e método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências. O Abstract (resumo em inglês) deve ser precedido pelo título em inglês. As referências bibliográficas devem aparecer no final do texto, obedecendo às normas especificadas a seguir.

Comunicações breves

São relatos curtos que devem apresentar: 1) dados de estudos preliminares com achados sugestivos que garantam uma investigação mais definitiva; 2) estudos de replicação; e 3) estudos negativos de tópicos importantes. Esses artigos devem ter até 1.500 palavras, incluir resumo não-estruturado e, no máximo, uma tabela ou figura, além das referências bibliográficas.

Artigos de revisão

Serão aceitos apenas mediante convite. Avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado assunto, devem incluir conclusões e ter até 5 mil palavras. A organização do texto, com exceção de Introdução, Discussão e Conclusão, fica a critério do autor. Para esses artigos, exige-se um resumo estruturado no idioma do texto e outro em inglês. Uma lista extensa de referências bibliográficas deve aparecer no final do texto.

Artigos de atualização

São trabalhos descritivos e interpretativos baseados na literatura recente sobre a situação global em que se encontra determinado assunto. Devem conter até 3 mil palavras. A estrutura

do texto fica a critério do autor, mas deve haver um resumo não-estruturado no idioma do texto e outro em inglês, além de referências bibliográficas.

Relatos de caso

São trabalhos de observações clinicolaboratoriais originais, acompanhados de análise e discussão. Devem conter até 1.500 palavras. A estrutura deve apresentar, no mínimo, os seguintes tópicos: Introdução, Relato(s) dos(s) caso(s) e Discussão. Incluir um resumo não-estruturado no idioma do texto e outro em inglês

Cartas aos editores

Inclui cartas que visam a discutir artigos recentes publicados na revista ou a relatar pesquisas originais ou achados científicos significativos. Cartas breves, com no máximo 500 palavras (incluindo referências, sem tabelas ou figuras), serão consideradas se estiver explícita a frase "para publicação".

Referências

As referências bibliográficas devem aparecer no final do artigo, em ordem alfabética numerada. Devem seguir as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) - NBR-6023 (agosto 2000). Os títulos dos periódicos deverão ser referidos na forma abreviada de acordo com o Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus). Se a lista de referências não seguir a norma adotada, os trabalhos serão imediatamente rejeitados, sem revisão de conteúdo. Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados, quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências bibliográficas; apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. A lista de referências deve seguir o estilo dos exemplos abaixo.

Exemplos:

- Artigos de periódicos (um só autor) COTRIM, F. L. S. Coleta de sangue para dosagem de triglicerídeos. *J Bras Patol*, v. 33, n. 4, p. 201-02, 1997.

- Artigos de periódicos (mais de três autores) ABREU, E. S. *et al.* Doença de Hodgkin infanto-juvenil no estado do Ceará e sua relação com o vírus Epstein-Barr: parâmetros clínicos e análise morfológica imuno-histoquímica e por hibridização in situ. *J Bras Patol*, v. 33, n. 4, p. 178-84, 1998.
- Artigo de periódico *on-line* YAZLE, J. S. R. *et al.* Assistência hospitalar como indicador da desigualdade social. *Rev Saúde Publ*, São Paulo, v. 31, n. 5, 1997. Disponível em: <http://www.fsp.usp.br/rsp>. Acesso em: 23 mar. 1998.
- Livros no todo (dois autores) RINGSVEN, M. K.; BOND, D. *Gerontology and leadership skills for nurses*. Albany, N.Y.: Delmar Publishers, 1996.
- Capítulos ou parte de livro editado por outro autor SCIVOLETO, R. Sistema nervoso autônomo. In: ZANINI, A. C.; OGA, S. *Farmacologia aplicada*. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1989. Cap. 9; p. 97-141.
- Parte de livro em meio eletrônico SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: _____. *Entendendo o meio ambiente*. São Paulo, 1999. v. 1. Disponível em: <http://www.bdt.org/sma/entendendo/atual/htm>. Acesso em: 8 mar. 1999.
- Evento em meio eletrônico SILVA, R. N.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total da educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., 1996, Recife. *Anais eletrônicos...* Recife: UFPE, 1996. Disponível em: <http://www.propesq.ufpe.br/anais/educ/ce04.htm>. Acesso em: 21 jan. 1997.
- Tese ou dissertação OLIVEIRA, C. M. *Isolamento e caracterização de estreptococos de placa dental*. Rio de Janeiro, 1974. Tese (doutoramento) - Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Citações no texto devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão *et al.*, como, por exemplo, Higashi *et al.*

Tabelas e figuras

As tabelas deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçadas por seu título, recomendando-se a não-repetição dos mesmos dados em gráficos. Na montagem das tabelas, seguir as normas de apresentação tabular estabelecidas pelo Conselho

Nacional de Estatística e publicadas pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 1993). As ilustrações (gráficos, fotografias, desenhos etc.) deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras. Devem ser suficientemente claras para permitir sua produção. Os gráficos deverão vir preparados em programa processador de gráficos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto onde as ilustrações serão intercaladas como figuras. O SGP aceita a importação de tabelas, imagens e gráficos em arquivo eletrônico nos seguintes formatos: jpg, gif, psd, tif e png

Abreviações e nomes de medicamentos

As abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Empregar o nome genérico de medicamentos e indicar a fonte de componentes não-disponíveis para prescrição. As unidades de medida, inclusive suas abreviaturas, devem ser expressas no sistema métrico decimal e, quando o autor assim o desejar, também no Sistema Internacional (SI) entre parênteses.

Contato com a secretaria do JBPML

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial Tel.: (21) 3077-1400. e-mail: jbpml@sbpc.org.br