

Ação antimicrobiana *in vitro* de extratos glicólicos de *Psidium guajava* L., *Syzygium cumini* L. e *Pimpinella anisum* L.

In vitro antimicrobial action of extracts glicolics of *Psidium guajava* L., *Syzygium cumini* L. and *Pimpinella anisum* L.

RIAL A6/1196

Cristiane Aparecida PEREIRA¹, Poliana das Graças Figueiredo VILELA¹, Luciane Dias de OLIVEIRA¹, Antonio Olavo Cardoso JORGE¹

*Endereço para correspondência: Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal, Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Av. Paraíso, 290, Jardim Paraíso, CEP 12235-460, São José dos Campos, SP, Brasil, e-mail: cricabio@gmail.com

¹Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal, Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP, São José dos Campos, SP, Brasil.

Recebido: 11.09.2008 – Aceito para publicação: 11.03.2009

RESUMO

Várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas e direcionadas no descobrimento de novos agentes antimicrobianos provenientes de plantas, para serem aplicados em produtos farmacêuticos. O objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a propriedade antimicrobiana de extratos glicólicos (75%) de *Psidium guajava* L. (goiabeira), *Syzygium cumini* L. (jambolão) e *Pimpinella anisum* L. (erva-doce) sobre cepas padrão de *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* e *Bacillus atrophaeus* (esporos). Foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) pelo método de microdiluição em caldo, seguindo-se de subcultivos em agar para determinar a concentração microbicida mínima (CMM). Os extratos apresentaram as seguintes CIM e CMM, respectivamente: goiabeira 25% e 50% para *C. albicans*, *E. faecalis* e *E. coli*; 12,5% e 25% para *S. mutans*, e, 3,12% e 6,25% para *S. aureus*; jambolão 25% e 50% para *C. albicans*, 12,5% e 25% para *E. faecalis* e *S. aureus*, e, 6,25% e 12,5% para *E. coli* e *S. mutans*; erva-doce 12,5% e 25% para *C. albicans* e *S. mutans*, 6,25% e 12,5% para *E. faecalis* e *S. aureus*, e 3,12% e 6,25% para *E. coli*. Conclui-se que, apesar da resistência apresentada por *B. atrophaeus*, os extratos utilizados demonstraram potencial antimicrobiano sobre os demais micro-organismos

Palavras-chave. atividade antimicrobiana, *Psidium guajava*, *Syzygium cumini*, *Pimpinella anisum*.

ABSTRACT

Several researches have been developed to search for new antimicrobial agents from plants, to be used in pharmaceutical products. The aim of this study was to evaluating *in vitro* antimicrobial properties of extracts glicolics (75%) of *Psidium guajava* L. (guava), *Syzygium cumini* L. (jambolan) and *Pimpinella anisum* L. (herb-sweet) on standard strains of *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* and *Bacillus atrophaeus* (spores). During the experiment, the minimal inhibitory concentration (MIC) was determined by broth dilution method, following by subcultivation in agar in order to determine the minimal microbicide concentration (MMC). The extracts showed the following CIM and MMC, respectively: *Psidium guajava* L 25% and 50% for *C. albicans*, *E. faecalis* and *E. coli*, 12,5% and 25% for *S. mutans*, and 3,12% and 6,25% for *S. aureus*; *Syzygium cumini* L. 25% and 50% for *C. albicans*, 12,5% and 25% for *E. faecalis* and *S. aureus*, and 6,25% and 12,5% for *E. coli* and *S. mutans*; *Pimpinella anisum* L-12,5% and 25% for *C. albicans* and *S. mutans*, 6,25% and 12,5% for *E. faecalis* and *S. aureus*, and 3,12% and 6,25% for *E. coli*. It could be concluded that, despite the resistance by *B. atrophaeus*, the extracts used showed antimicrobial potential on the other microorganisms.

Key words. antimicrobial properties, *Psidium guajava*, *Syzygium cumini*, *Pimpinella anisum*.

INTRODUÇÃO

A indústria farmacêutica tem produzido nos últimos tempos um expressivo número de novos antimicrobianos, no entanto, a resistência microbiana a esses fármacos também aumentou. A habilidade genética dos micro-organismos de adquirir e transmitir resistência aos antimicrobianos utilizados como agentes terapêuticos¹, torna a perspectiva do uso de antibióticos incerta. Desta forma, torna-se necessário controlar o uso de antibióticos, ampliar pesquisas sobre o mecanismo genético de resistência e desenvolver novos antimicrobianos sintéticos ou naturais^{2,3}.

Atualmente, o emprego de plantas medicinais para o tratamento de algumas doenças corriqueiras tem sido apoiado pela classe médica e por programas oficiais de saúde. O Brasil possui um número muito grande de espécies vegetais nativas que são consideradas medicinais^{4,5,6}, mas muitas ainda não tiveram qualquer avaliação científica do seu uso medicinal, o que é essencial para que possam continuar a serem utilizadas com segurança pela população. No âmbito odontológico, as pesquisas com produtos naturais têm aumentado nos últimos anos devido à busca por novos produtos com maior atividade farmacológica, com menor toxicidade e mais biocompatíveis, além de apresentarem valores mais acessíveis à população⁷.

Existe na cavidade bucal uma grande variedade de micro-organismos que podem, por um desequilíbrio, tornar-se patogênicos, muitos dos quais estão relacionados com cárie, doenças periodontais, infecções endodônticas e lesões de mucosa. O gênero *Enterococcus*, que compõe um grupo de bactérias Gram-positivas, está associado a infecções endodônticas e lesões periapicais. *Enterococcus faecalis* é frequentemente encontrado em infecções persistentes dos canais radiculares, em que houve insucesso do tratamento endodôntico, exibindo sinais de periodontite crônica apical⁸.

Staphylococcus aureus é um micro-organismo patogênico oportunista relevante na cavidade bucal, que tem a capacidade de atuar como microbiota suplementar, sendo frequentemente encontrada em abscessos periapicais e estomatites protéticas⁹.

Streptococcus mutans é considerado o principal agente etiológico do desenvolvimento da cárie, devido a sua habilidade em aderir firmemente à superfície dos dentes pela produção de polissacarídeos extracelulares e sua capacidade de produzir ácidos¹⁰.

Dentro deste grupo de bactérias Gram-positivas, encontra-se também *Bacillus atrophaeus* (denominado anteriormente de *Bacillus subtilis*), um micro-organismo que apresenta resistência aos processos de esterilização e desinfecção, servindo como parâmetro para a avaliação da eficiência de agentes antimicrobianos¹¹, especialmente na desinfecção de superfície, viabilizando seu uso no ambiente hospitalar ou consultório odontológico.

A bactéria Gram-negativa *Escherichia coli*, além de possuir diferentes fatores de virulência e gerar produtos e subprodutos tóxicos aos tecidos apicais e periapicais, contém endotoxina em sua parede celular, que exercem uma série de efeitos biológicos relevantes, que conduzem a uma reação inflamatória e à reabsorção dos tecidos mineralizados¹².

As leveduras do gênero *Candida*, que vivem comumente na cavidade bucal de indivíduos aparentemente saudáveis, é um micro-organismo oportunista, que, na dependência de fatores predisponentes que alteram a integridade orgânica, modifica a sua conformação leveduriforme para uma forma filamentosa, tornando-se patogênico¹³. Aproximadamente metade da população adulta saudável abriga essas espécies na cavidade bucal¹⁴, sendo *Candida albicans* o micro-organismo comensal evidenciado com maior frequência atingindo até 70% do total de isolamentos, tendo um papel relevante no desencadeamento de infecções bucais¹⁵.

Diante do desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos, existe uma grande preocupação relacionada a qual tipo de tratamento utilizar no combate às infecções provocadas por micro-organismos. O emprego de extratos brutos de plantas tem merecido a atenção de pesquisadores de vários países, já que podem inibir o crescimento bacteriano e fúngico por diferentes mecanismos quando comparados aos antimicrobianos¹⁶.

Dentre as diversas plantas existentes e utilizadas como terapia alternativa pode-se citar *Psidium guajava* L. (goiabeira), *Syzygium cumini* L. (jambolão) e *Pimpinella anisum* L. (erva-doce).

A planta *Psidium guajava* L., conhecida popularmente como goiabeira, apresenta-se na natureza em forma de arbusto perene da família *Mirtaceae*. É uma árvore frutífera, originária das Américas Central e do Sul, cultivada em todos os países de clima tropical. Na medicina popular é utilizada para cólicas, colite, diarreia, disenteria e dor de barriga^{17,18}. Vieira et al.¹⁹ avaliaram o efeito microbicida dos extratos de broto de *Psidium guajava* L. sobre *E. coli* e *S. aureus*. De acordo com os

autores, o extrato do broto da goiabeira apresentou atividade antimicrobiana, tornando-se, portanto, uma opção viável devido sua rápida ação curativa, fácil cultivo em países tropicais e seu baixo custo.

Syzygium cumini L., conhecida popularmente como jambolão, é uma planta da família *Mirtaceae*, oriunda da Índia oriental²⁰, bastante conhecida na medicina popular indiana e paquistanesa por seus efeitos hipoglicemiantes²¹. Vem sendo cultivada no Brasil como planta ornamental e o chá de suas folhas é normalmente utilizado por pacientes diabéticos^{22,23,24}. Em estudo realizado por Oliveira et al.²⁵, o extrato hidroalcoólico bruto das folhas de jambolão foi ativo sobre cepas padrão de *C. albicans*, *E. coli*, *E. faecalis*, *Candida krusei*, *Klebsiella pneumoniae* e *Shigella flexneri*.

Pimpinella anisum L., conhecida como erva-doce ou anis, é uma planta pertencente a família *Umbelliferae* originária da costa mediterrânea. É usada como antiespasmódica, inibidora da fermentação intestinal e carminativa²⁶. Alguns estudos mostraram importantes atividades atribuídas a *Pimpinella anisum* L. Os testes feitos por Boskabady e Ramazani-Assari²⁷ constataram a ação broncodilatadora do óleo essencial e dos extratos etanólicos e aquosos desta planta. Forte atividade antioxidante e notável ação antibacteriana para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas também foi demonstrado²⁸.

Tendo em vista o potencial antimicrobiano de alguns extratos de plantas, o emprego de compostos naturais na odontologia pode ser considerado instrumento importante na terapia de diversas patologias bucais, como na prevenção e tratamento de cárie dentária, doença periodontal, infecções endodônticas e candidose bucal¹⁷. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a ação antimicrobiana dos extratos glicólicos de *Psidium guajava* L., *Syzygium cumini* L. e *Pimpinella anisum* L. sobre cepas padrão de *Bacillus atrophaeus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*, através da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração micrbicida mínima (CMM).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados neste estudo extratos glicólicos de *Pimpinella anisum* L. (erva-doce), *Psidium guajava* L. (goiabeira) e *Syzygium cumini* L. (jambolão), adquiridos da empresa Multi Vegetal (Campinas, São Paulo, Brasil),

acompanhados de laudo de identificação. No preparo de cada extrato foi utilizada 75% de massa seca obtida através das folhas, *Syzygium cumini* L. e *Psidium guajava* L., e frutos, *Pimpinella anisum* L., diluída em 25% de propileno glicol, resultando numa concentração de 750 mg/mL.

A atividade antimicrobiana dos extratos glicólicos foi avaliada em cepas padrões de *Bacillus atrophaeus* (ATCC 65961), *Candida albicans* (ATCC 18804), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Streptococcus mutans* (ATCC 35688). As cepas foram provenientes do Laboratório de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP.

As bactérias foram semeadas em ágar infusão cérebro coração, BHI (Brain Heart Infusion, Difco, Detroit, USA), e incubadas em estufa a 37°C em aerobiose, sendo as cepas de *S. mutans* incubadas em condições de microaerofilia (5% de CO₂), durante período de 24 horas. Para *B. atrophaeus* foram utilizados os esporos obtidos de acordo com a metodologia proposta por Kuroiwa et al.²⁹. As leveduras de *C. albicans* foram cultivadas em ágar Sabouraud dextrose (Difco, Detroit, USA), a 37°C, e incubadas por 24 horas. Os cultivos foram suspensos em solução fisiológica estéril (NaCl 0,9%) ajustados por espectrofotômetro (Micronal B582/Versão 3.0.4, São Paulo, Brasil) até a obtenção de uma suspensão padronizada contendo 10⁶ células/mL. Os parâmetros de densidade óptica e comprimento de onda (nm) foram, respectivamente: 530 e 0,284 para *C. albicans*; 307 e 0,178 para *B. atrophaeus*; 590 e 0,324 para *E. coli*; 760 e 0,298 para *E. faecalis*; 490 e 0,374 para *S. aureus*; e 398 e 0,620 para *S. mutans*.

Para determinar a CIM dos extratos, foi utilizado o método de microdiluição em caldo³⁰. Foram realizadas diluições seriadas dos extratos (50%, 25%, 12,5%, 6,25% e 3,125%), em placas de 24 poços (Costar Corning, New York, EUA) com 1mL em cada orifício de caldo infusão cérebro coração, BHI (Brain Heart Infusion, Difco, Detroit, USA) para as bactérias, e 1 mL de caldo Sabouraud dextrose (Difco, Detroit, USA) para as leveduras. Posteriormente, foi inoculado 100 µL da suspensão padronizada de cada cepa do micro-organismo a ser testado. O grupo controle positivo foi constituído de caldo e o inóculo microbiano avaliado. O grupo controle negativo foi constituído de caldo e extrato. As placas foram incubadas em estufa por 24 horas a 37°C. Foi considerada como CIM a menor concentração dos extratos glicólicos testados que inibiu

o crescimento visível dos micro-organismos, ou seja, sem turvação do caldo e depósito microbiano.

Paralelamente, também foi realizado teste para avaliar a capacidade antimicrobiana do solvente propilenoglicol.

Após o período de incubação, foram determinadas as concentrações microbicidas mínimas (CMM). Alíquotas de 100 µL dos testes anteriores foram semeadas em placas de Petri contendo para as bactérias ágar BHI, e para as leveduras ágar Sabouraud dextrose. As placas foram incubadas por 48 horas, a 37°C. A CMM foi definida como a menor concentração dos extratos glicólicos testados que não apresentou crescimento microbiano em meio sólido.

Em todos os ensaios com cepas *S. mutans* a incubação foi realizada em estufa com condições de microaerofilia (5% de CO₂) a 37°C. Todos os testes foram realizados em duplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em decorrência do uso abusivo de antibióticos tradicionais e do crescente aumento da resistência microbiana, os microbiologistas clínicos têm demonstrado grande interesse na investigação de extratos de plantas com potencial antimicrobiano³¹.

A escolha dos micro-organismos desta pesquisa buscou abranger espécies usualmente utilizadas em estudos para avaliação de atividade antimicrobiana, bem como sua associação com diversas patologias que acometem a cavidade bucal. Já a escolha de micro-organismo *B. atrophaeus* em sua forma de esporos foi para servir como parâmetro no estudo da eficácia dos extratos testados, uma vez que esta forma apresenta grande resistência aos antimicrobianos.

O teste de atividade antimicrobiana realizado com o solvente propilenoglicol, isoladamente, não apresentou efeito inibitório ou microbicina sobre os micro-organismos analisados. O controle positivo realizado apresentou excelente viabilidade das cepas utilizadas. O controle negativo não apresentou qualquer tipo de contaminação do caldo ou dos extratos testados.

Os resultados da determinação da CIM e CMM obtidos dos extratos glicólicos testados, de acordo com a metodologia utilizada, estão representados na Tabela 1, onde se pode constatar que os extratos glicólicos de *P. guajava* L., *S. cumini* L. e *P. anisum* L. apresentaram atividade antimicrobiana contra as cepas padrões de *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. mutans*, *E. coli* e *C. albicans*, em diferentes concentrações, mas não foram efetivos contra forma esporulada de *B. atrophaeus*.

Tabela 1. Concentração inibitória mínima (CIM) e Concentração microbicia mínima (CMM) dos extratos glicólicos de *Pimpinella anisum* L., *Psidium guajava* L. e *Syzygium cumini* frente aos microrganismos *Bacillus atrophaeus*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*

Microrganismo	CIM (% a partir da concentração original 750 mg/mL)			CMM (% a partir da concentração original 750 mg/mL)		
	<i>P. anisum</i>	<i>P. guajava</i>	<i>S. cumini</i>	<i>P. anisum</i>	<i>P. guajava</i>	<i>S. cumini</i>
<i>Bacillus atrophaeus</i> (ATCC 65961)	R*	R*	R*	R*	R*	R*
<i>Candida albicans</i> (ATCC 18804)	12,5	25	25	25	50	50
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	6,25	25	12,5	12,5	50	25
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	3,12	25	6,25	6,25	50	12,5
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	6,25	3,12	12,5	12,5	6,25	25
<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 35688)	12,5	12,5	6,25	25	25	12,5

*R= Resistente.

Para avaliar se as CIM apresentaram efeito microbiostático ou microbicida realizaram-se ensaios para determinar CMM. Como pode-se observar, as CIM dos extratos testados apresentaram somente efeito inibitório ao crescimento dos micro-organismos, uma vez que para obter o efeito microbicida foram necessárias concentrações maiores dos extratos (CMM) (Tabela 1).

Dentre os extratos utilizados, o extrato glicólico de *Pimpinella anisum* L. foi o mais efetivo frente aos micro-organismos, posto que baixas concentrações do mesmo apresentaram ação antimicrobiana. A concentração inibitória mínima (CIM) do extrato glicólico das folhas de *P. guajava* L. foi de 25% frente a *C. albicans*, *E. faecalis* e *E. coli*; 12,5% para *S. mutans* e 3,12% para *S. aureus*, enquanto a concentração microbicida mínima (CMM) foi de 50% para *C. albicans*, *E. faecalis* e *E. coli*; 25% para *S. mutans* e 6,25% para *S. aureus*. Estes resultados estão de acordo com os relatados por Holetz et al.³², que encontraram atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das folhas de *P. guajava* L. sobre *C. albicans*, *S. aureus* e *E. coli*, indicando que as folhas desta planta poderiam ser utilizadas pelo seu efeito antimicrobiano. Sanches et al.³³ também demonstraram efeito inibitório dos extratos hidroalcoólico e aquoso da folha, raiz e casca do caule de *P. guajava* L. sobre cepas padrão de *S. aureus*. Mas os extratos utilizados por esses autores não foram ativos contra *E. coli*, divergindo dos resultados obtidos no presente estudo, onde o extrato glicólico das folhas de *P. guajava* L. teve efeito microbiostático e microbicida frente a este micro-organismo.

O extrato glicólico das folhas de *P. guajava* L. utilizado apresentou as menores CIM e CMM, 3,125% e 6,25% respectivamente, sobre o crescimento de *S. aureus*, o que pode ser considerado um achado significante, pois este micro-organismo é frequentemente resistente aos antibióticos rotineiramente utilizados¹⁹. Dados semelhantes também foram demonstrados por Gnam e Demello³⁴ e Jaiarj et al.³⁵ que ao avaliarem o efeito dos extratos aquoso e alcoólico das folhas de *P. guajava* L., relataram resultados nos quais estes extratos exerceram forte poder inibitório ao crescimento de *S. aureus*.

O extrato glicólico das folhas de *S. cumini* L. apresentou as seguintes CIM e CMM, respectivamente: 25% e 50% para *C. albicans*; 12,5% e 25% para *E. faecalis* e *S. aureus*, e, 6,25% e 12,5% para *E. coli* e *S. mutans*. Michelin et al.³⁶ (2005) também demonstraram a atividade antimicrobiana do extrato seco das folhas de *S. cumini* L sobre cepas padrão e resistentes de *E. coli*, e sobre cepas

padrão de *S. aureus*, mas o extrato não foi capaz de inibir o crescimento de cepas padrão de *C. albicans*, o que diverge neste último caso, dos dados encontrados na presente pesquisa, pois o extrato de *S. cumini* L. foi efetivo contra *C. albicans*. Nascimento et al.³, em pesquisa realizada para avaliar a ação antimicrobiana de diversos extratos hidroalcoólicos de vegetais a micro-organismos sensíveis e resistentes a antibióticos, verificaram que o extrato de *S. cumini* inibiu 57,1% dos micro-organismos testados, dentre os quais estavam cepas resistentes e sensíveis de *S. aureus*, e, cepas resistentes de *C. albicans* e *E. coli*. Além disso, esses autores também avaliaram algumas associações de antibióticos e extratos vegetais ou fitofármacos, e concluíram que o efeito sinérgico possibilita que os antibióticos já ineficazes possam ter ação sobre micro-organismos resistentes.

Em relação a *P. anisum* L., o conhecimento sobre o seu potencial antimicrobiano tem despertado o interesse científico, levando ao desenvolvimento de estudos que constataram atividade antimicrobiana, antifúngica e antimalária de alguns dos compostos desta planta³⁷. O extrato glicólico dos frutos de *P. anisum* L. apresentou as seguintes CIM e CMM, respectivamente: 12,5% e 25% para *C. albicans* e *S. mutans*; 6,25% e 12,5% para *E. faecalis* e *S. aureus*, e, 3,125% e 6,25% para *E. coli*. Em 2003, Gulçin et al.²⁸ verificaram que os extratos aquoso e etanólico de *P. anisum* L., na concentração de 25%, foram efetivos na inibição do crescimento de *S. aureus*, resultado semelhante ao do presente estudo (CIM de 6,25% e CMM de 12,5%). Porém, esses autores não obtiveram inibição do crescimento de cepas padrão de *E. coli* e *C. albicans*, o que difere dos resultados do atual estudo, onde esta planta teve ação inibitória no crescimento de tais micro-organismos. Kosalec et al.³⁸ relataram a atividade antifúngica do extrato fluido e do óleo essencial de *Pimpinella anisum* L. contra leveduras do gênero *Candida* e dermatófitos, sendo que a espécie *C. albicans* apresentou larga zona de inibição na utilização de ambos os produtos naturais. Ainda nesse trabalho, a atividade antifúngica dos dois produtos naturais foi maior ou semelhante à atividade antifúngica de cetoconazol.

Bacillus atrophaeus mostrou-se resistente a todas as concentrações dos extratos glicólicos das plantas utilizadas nesta pesquisa, o que diverge dos trabalhos realizados por Holetz et al.³² e Sanches et al.³³, nos quais os extratos hidroalcoólico e aquoso de *P. guajava* L inibiram o crescimento de *B. atrophaeus*, mas por outro lado, corrobora com o trabalho de Nascimento et al.³, que não

conseguiram inibição de crescimento de *B. atrophaeus* com o extrato de *S. cumini* L.

Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com o histórico das espécies vegetais estudadas, quanto a sua propriedade antimicrobiana e à demonstração de que os micro-organismos, com exceção do *B. atrophaeus*, mostraram-se sensíveis aos extratos glicólicos utilizados. É importante ressaltar que até a finalização desta pesquisa não foram encontrados estudos que fizessem uso do extrato glicólico destas plantas e que a análise da atividade antimicrobiana nos diversos trabalhos foi realizada por diferentes metodologias, o que torna difícil uma análise comparativa fidedigna.

A demonstração da propriedade antimicrobiana dos extratos utilizados frente às cepas padrões foi relevante porque as cepas testadas são de micro-organismos que estão associados com patologias que acometem a cavidade bucal e geralmente são utilizadas em pesquisas para análise de atividade antimicrobiana. No entanto, como estes resultados se aplicam somente a estas cepas padrões, posteriores estudos devem abordar cepas resistentes e assim ampliar a pesquisa para o desenvolvimento de novos antimicrobianos necessários para combater micro-organismos resistentes.

CONCLUSÃO

Apesar da resistência apresentada pela bactéria *B. atrophaeus*, os resultados obtidos neste estudo demonstraram o potencial antimicrobiano dos extratos glicólicos de *Psidium guajava* L., *Syzygium cumini* L. e *Pimpinella* frente as demais cepas padrões de *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. mutans*, *E. coli* e *C. albicans*, micro-organismos que estão relacionados às patologias da cavidade bucal. Porém, são requeridos novos estudos com estas espécies vegetais para se determinar quais as substâncias presentes nos extratos e que contribuem para a atividade biológica, como também para entender os mecanismos de ação e avaliar a citotoxicidade, visando assim uma possível aplicação farmacêutica.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) pela concessão das bolsas de mestrado.

REFERÊNCIAS

1. Cohen ML. Epidemiology of drug resistance: implications for a post antimicrobial era. *Science* 1992; 257(5073):1050-5.
2. Amoroso MCM. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. *Acta Bot Bras* 2002; 16: 189-203.
3. Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic – resistant bacteria. *Braz J Microbiol* 2000; 31(4):247-56.
4. Barbosa-Filho JM, Vasconcelos THC, Alencar AA, Batista LM, Oliveira RAG, Guedes DN, et al. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. *Rev Bras Farmacogn* 2005; 15: 392-413.
5. Lima MRF, Ximenes CPA, Luna JS, Sant'Ana AEG. The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. *Rev Bras Farmacogn* 2006; 16(3): 300-6.
6. Brandão MGL, Cosenza GP, Moreira RA, Monte-Mor RLM. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn* 2006; 16(3): 408-20.
7. Castilho AR, Murata RM, Pardi V. Produtos naturais em odontologia. *Rev Saúde* 2007; 1(1):11-9.
8. Paradella TC, Koga-Ito CY, Jorge AOC. *Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas. *Rev de Odontol UNESP* 2007; 36(2):163-8.
9. Martins CAP, Koga-Ito CY, Jorge C. Presence of *Staphylococcus* spp. and *Candida* spp. in the human oral. *Braz J Microbiol* 2002; 33(3): 236-40.
10. Napimoga MH, Kamiya RU, Rosa RT, Rosa EAR, Höfling JE, Mattos-Graner RO et al. Genotypic diversity and virulence traits of *Streptococcus mutans* in caries-free and caries-active individuals. *J Med Microbiol* 2004; 53(7): 697-703.
11. Faraco-Junior IM, Piva F, Fonseca ACE. Avaliação da atividade antimicrobiana do formocresol e do paramonoclorofenol canforado. *Robrac* 2006; 15: 16-22.
12. Oliveira LA, Barbosa SV. Reação pulpar ao lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*. *Rev ABO Nac* 2006; 14(2): 95-8.
13. Ramos INC, Vasconcelos LCS, Lima MGGC, Figueiredo RLQ. Candidose Bucal em pacientes HIV-positivos. *JBC J Bras Clin Estet Odontol* 1999 3(13): 59-61.
14. Arendorf TM, Walker DM. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch Oral Biol* 1980; (25): 1-10.
15. Jorge AOC, Koga Ito GY, Gonçalves CR, Fantinato V, Unterkircher CS. Presença de leveduras do gênero *Candida* na saliva de pacientes com diferentes fatores predisponentes e de indivíduos controle. *Rev Fac Odontol Univ São Paulo* 1997; 11(4): 279-85.
16. Anibal PC. Potencial de ação antimicrobiana *in vitro* de extratos de plantas na inibição de *Candida* spp, *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. [Dissertação de Mestrado]. Piracicaba: Faculdade de odontologia de Piracicaba, 2007. 71p.
17. Vendruscolo GS, Rates SMK, Mentz LA. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Rev Bras Farmacogn* 2005; 15(4): 361-72.
18. Tôrres AR, Oliveira RAG, Diniz MFFM, Araújo EC. Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios. *Rev Bras Farmacogn* 2005;15(4): 373-80.

19. Vieira RHSF, Rodrigues DP, Gonçalves FA, Menezes FGR, Aragão JS, Sousa OV. Microbicidal effect of medicinal plants extracts (*Psidium guajava* LINN. and *Carica papaya* LINN.) upon bacteria isolated from fish muscle and known to induce diarrhea in children. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2001; 43(3):145-8.
20. Morton J. *Jambolan*. In: Morton J. *Fruits of warm climates*. Miami: Creative Resource Systems; 1987. p.375-8.
21. Prince PSM, Menon VP, Pari L. Hypoglycemic activity of *Syzygium cumini* seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 1998; 61(1):1-7.
22. Silva-Neto CR, Lopes RA, Contrera MGD, Pozetti GL. Efeitos antagônicos de plantas medicinais na diurese de ratos. *Pesqui Homeopática* 1987; 4(1): 17-21.
23. Teixeira CC, Fuchs FD, Blotta RM, Knijnik J, Delgado IC, Netto MS et al. Effect of tea prepared from leaves of *Syzygium jambos* on glucose tolerance in non-diabetes subjects. *Diabetes Care* 1990; 13(8):907-8.
24. Soares JCM, Costa ST, Cecim M. Níveis glicêmicos de colesterol em ratos com *Diabetes Mellitus* aloxano induzido, tratados com infusão de *Bauhinia candicans* ou *Syzygium jambolanum*. *Ciênc Rural* 2000; 30(1):113-8.
25. Oliveira GF, Furtado NAJC, Silva-Filho AA, Martins CHG, Bastos JK, Cunha WR et al. Antimicrobial activity of *Syzygium cumini* (Myrtaceae) leaves extract. *Braz J Microbiol* 2007; 38(2): 381-4.
26. Bruneton J. *Elementos de fitoquímica e farmacognosia*. Zaragoza: Acriba, 1991. 594p.
27. Boskabady MH, Ramazani-Assari M. Relaxant effect of *Pimpinella anisum* on isolated guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s). *J Ethnopharmacol* 2001; 74: 83-8.
28. Gulcin I, Oktay M, Kufrevioglu OI. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chem* 2003; 83(3):371-82.
29. Kuroiwa K, Nakayama H, Kuwahara T, Tamagawa K, Hattori K, Murakami K, et al. Augmenting effect of acetic acid for acidification on bactericidal activity of hypochlorite solution. *Lett Appl Microbiol* 2003; 36: 46-9.
30. Eloff JN. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Med* 1998; 64: 711-3.
31. Volpato AMM. *Avaliação do potencial antibacteriano de *Calendula officinalis* (Asteraceae) para seu emprego como fitoterápico* [Tese de doutorado]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 2005. 111p.
32. Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DAG, Nakamura CV, Dias BPF. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infections diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002; 97(7):1027-31.
33. Sanches NR, Cortez DAG, Schiavini MS, Nakamura CV, Dias BPF. An evaluation of antibacterial activities of *Psidium guajava* (L.). *Braz Arch Biol Technol* 2005; 48(3):429-436.
34. Gnan SO e Demello MTJ. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous Goiaba extracts. *J Ethnopharmacol* 1999; 68(1-3):103-8.
35. Jaiarj P, Khoohaswan P, Wongkrajang Y, Peungvicha P, Suriyawong P, Saraya S, et al. Anticough and antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn. leaf extract. *J Ethnopharmacol* 1999; 67:203-22.
36. Michelin DC, Moreschi PE, Lima AC, Nascimento GGF, Paganelli MO, Chaud MV. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Rev Bras Farmacogn* 2005; 15:316-20.
37. Tabanca N, Bedir E, Ferreira D, Slade D, Wedge DE, Jacob MR, et al. Bioactive constituents from Turkish *Pimpinella* species. *Chem Biodives* 2005; 2(2):221-32.
38. Kosalec I, Pepelinjak S, Kustrak D. Antifungal activity of fluid extract and essencial oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae). *Acta Pharm* 2005; 55:377-85.