

LUÍS FERNANDO LANDUCCI

**ATIVIDADE INIBITÓRIA DE EXTRATOS VEGETAIS DO CERRADO
BRASILEIRO SOBRE MICRORGANISMOS BUCAIS**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, Área Biopatologia Bucal.

Orientador Prof. Adj. Elerson Gaetti-Jardim Júnior

São José dos Campos
2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Um dia, quando passei por uma loja, vi um anjo por trás do balcão.

Maravilhado entrei e perguntei-lhe:

-Santo Anjo do Senhor... o que vendes?

-Todos os dons de Deus.

- Custa muito caro?

- Não... é tudo de graça.

Contemplei a loja e vi:

Jarros de fé, pacotes de esperança, caixinhas de amor, vidros de humildade e muito mais. Fiquei entusiasmado! Tomei coragem e pedi:
- Por favor, embrulhe para mim paciência, amor de Deus, todo o perdão dele, bastante felicidade e tudo que seja bom para mim e para minha família.

O Anjo do Senhor anotou tudo, separou os itens e colocou tudo em um pequeno embrulho que cabia na palma da mão.

Surpreso, perguntei-lhe;

- Como é possível caber tudo isso nesse pacotinho?

O Anjo respondeu sorrindo:

Meu querido irmão... na loja de Deus não vendemos FRUTOS...

Apenas SEMENTES....

A todos aqueles que direta ou indiretamente me ajudaram a transformar as sementes em frutos!

Aos meus Pais, Benedito e Helena

Ao meu querido irmão, Carlos

Aos meus Tios, Pedro e Luiza

Aos meus avós, Issao, Yoshiko e Maria

A minha amiga e namorada, Késia

Ao meu amigo e irmão Elerson

DEDICO ESTE TRABALHO COM AMOR E CARINHO

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Adj. Elerson Gaetti-Jardim Júnior** por todos esses anos de ensinamento, amizade, orientação e exemplos de dedicação e trabalho.

Ao **Prof. Omar Arafat** por toda a ajuda e ensinamento com relação a utilização das plantas medicinais e a inestimável colaboração na elaboração dos extratos.

Ao **Prof. Adj. Antonio Olavo Cardoso Jorge** pelos ensinamentos, amizade e respeito.

À **Prof^ª. Dr^ª. Rosilene Fernandes da Rocha**, incentivadora e amiga de todas as horas.

À **Prof^ª. Adj. Yasmin Rodarte Carvalho** pela paciência e ajuda no Curso de Pós-Graduação.

A **Prof^ª. Dr^ª. Cristiane Yumi Koga Ito** por todo o ensinamento, amizade e exemplo de dedicação, sabedoria e humildade.

À **Prof^ª. Dr^ª. Luciane Dias de Oliveira** por toda a colaboração, imprescindíveis para a conclusão do meu curso de mestrado e doutorado, a quem devo toda a minha admiração, amizade e respeito.

Ao **Prof. Dr. Cláudio Talge de Carvalho** pela amizade, incentivo e colaboração inestimável em toda a minha trajetória na UNESP de São José dos Campos.

Ao **Prof. Eliseu Sicoli** por todo o conhecimento transmitido, amizade e exemplo de vida.

Ao **Prof. André Marçal Terreri** pela amizade e exemplos de dedicação e competência no trabalho.

Aos **meus amigos da Unidade Básica de Saúde do Santo Antônio em São José do Rio Preto** pelo incentivo, imensa colaboração e amizade inabaláveis em todos esses anos de trabalho juntos.

Aos meus Tios, **Dr. Pedro Guimarães** e **Luiza Guimarães** por toda a ajuda, carinho e amor que transmitiram durante todo o curso de mestrado e doutorado.

A **Clélia** amiga de sempre e grande colaboradora para o sucesso desse trabalho.

A **Silvia Scarpel** pela paciência e dedicação em todos esses anos de trabalho na Secretaria do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal.

A **Rosemary de Fátima Salgado** e a todos os **funcionários da Seção de Pós-Graduação** da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP, pela competência, amizade.

A **Ângela de Brito Belinni** por toda a revisão bibliográfica e dedicação ao seu e ao nosso trabalho.

À **Prof^a. Maria Cristina Pascutti** pela simpatia e extrema competência no trabalho de revisão e correção da redação.

A todos os **Professores do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica do Campus de Araçatuba - UNESP** e todos os **Professores do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal do Campus de São José dos Campos - UNESP**, pelo companheirismo, amizade, paciência, conhecimento transmitido e exemplos a serem seguidos.

Aos **Funcionários das Bibliotecas** (FOSJC e FOA) pela imensa ajuda, orientação e colaboração no trabalho.

Aos meus amigos de trabalho **Prof. Ary Locci Júnior, Prof^a. Angélica Marquezim Lopes, Prof^a. Aimée Maria Guiotti, Prof^a. Deborah Queiroz Freitas, Prof. Roberto Xavier Motta** e todos aqueles que direta ou indiretamente fazem parte de minha vida e convivem comigo no trabalho e tornam o ambiente de trabalho um local agradável e de felicidade.

Aos grandes **amigos** do Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos e de Araçatuba - UNESP.

Por fim, a todos aqueles que auxiliaram nesse trabalho e que porventura tenhamos omitido, nossos agradecimentos.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| LISTA DE FIGURAS..... | 8 |
| LISTA DE TABELAS E QUADROS..... | 9 |
| RESUMO..... | 11 |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 12 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA..... | 16 |
| 2.1 Plantas medicinais..... | 18 |
| 2.2 Plantas medicinais no Brasil..... | 18 |
| 2.3 Cerrado brasileiro e plantas medicinais do cerrado..... | 20 |
| 2.4 Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre diversos microrganismos..... | 21 |
| 2.5 <i>Streptococcus mutans</i> | 24 |
| 2.6 <i>Fusobacterium nucleatum</i> | 25 |
| 3 PROPOSIÇÃO..... | 30 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS..... | 31 |
| 4.1 Microrganismos..... | 31 |
| 4.2 Preparo dos extratos vegetais..... | 31 |
| 4.2.1 Plantas medicinais do cerrado utilizadas nos testes..... | 31 |
| 4.2.2 Preparo de extratos hidroalcoólicos dos vegetais..... | 34 |
| 4.2.2 Preparo de extratos aquosos dos vegetais..... | 35 |
| 4.3 Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais..... | 35 |

| | |
|--|-----|
| 4.4 Determinação da máxima diluição inibitória (MDI) dos extratos vegetais..... | 36 |
| 4.5 Ação inibitória de contato..... | 37 |
| 4.6 Atividade inibitória em biofilme..... | 38 |
| 4.6.1 Formação do biofilme microbiano..... | 38 |
| 4.6.2 Atividade inibitória dos extratos vegetais sobre os microrganismos em biofilme..... | 39 |
| 4.7 Influência dos extratos vegetais sobre a aderência ao vidro..... | 40 |
| 4.8 Influência dos extratos vegetais sobre a capacidade hemaglutinante..... | 41 |
| 5 RESULTADOS..... | 43 |
| 6 DISCUSSÃO..... | 60 |
| 7 CONCLUSÕES..... | 74 |
| 8 REFERÊNCIAS..... | 75 |
| 9 ANEXOS..... | 89 |
| 10 APÊNDICE..... | 101 |
| 11 <i>ABSTRACT</i> | 103 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1 - Mapa do Estado do Maranhão e localização espacial da cidade de Carolina..... | 65 |
| FIGURA 2 - Região da cidade de Carolina – MA, relevo e vegetação visto em fotografia por satélite..... | 57 |
| FIGURA 3 - Mapa do Estado do Mato Grosso do Sul e localização espacial da cidade de Camapuã..... | 31 |
| FIGURA 4 - Região da cidade de Camapuã – MS, relevo e vegetação visto em fotografia por satélite..... | 45 |
| FIGURA 5 - Laboratório de Bioquímica onde foram obtidos os extratos vegetais..... | 47 |
| FIGURA 6 - Estufa especial para secagem de plantas..... | 49 |
| FIGURA 7 - Folha de carne-de-vaca (<i>Roupala brasiliensis</i>) após secagem..... | 50 |
| FIGURA 8 - Caules e folhas secas de caroba (<i>Jacaranda cuspidifolia</i>) | 51 |

LISTA DE TABELAS E QUADROS

| | |
|---|----|
| TABELA 1 - Influência de extratos vegetais aquosos em concentrações subinibitórias sobre a capacidade de adesão ao vidro de <i>S. mutans</i> ATCC 1910..... | 58 |
| TABELA 2 - Influência de extratos vegetais aquosos em concentrações subinibitórias sobre a capacidade de adesão ao vidro de <i>S. mutans</i> ATCC 35688..... | 59 |
| QUADRO 1 - Relação de espécies do cerrado de uso na medicina popular, empregadas no presente estudo, de acordo com família, espécie, parte da planta utilizada, nome popular..... | 31 |
| QUADRO 2 - Triagem inicial da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais hidroalcoólicos..... | 46 |
| QUADRO 3 - Triagem inicial da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais aquosos..... | 48 |
| QUADRO 4 - Máxima Diluição Inibitória (MDI) dos extratos vegetais hidroalcoólicos..... | 50 |
| QUADRO 5 - Máxima Diluição Inibitória (MDI) dos extratos vegetais aquosos..... | 51 |
| QUADRO 6 - Tempo necessário para eliminar o inóculo em contato com os extratos vegetais hidroalcoólicos para <i>S. mutans</i> ATCC 35688 e ATCC 1910..... | 52 |

| | |
|---|-----|
| QUADRO 7 - Tempo necessário para eliminar o inóculo em contato com os extratos vegetais aquosos para <i>S. mutans</i> ATCC 35688 e ATCC 1910..... | 52 |
| QUADRO 8 - Tempo necessário para eliminar o inóculo em contato com os extratos vegetais hidroalcoólicos para <i>F. nucleatum</i> ATCC 10953..... | 53 |
| QUADRO 9 - Tempo necessário para eliminar o inóculo em contato com os extratos vegetais aquosos para <i>F. nucleatum</i> ATCC 10953..... | 53 |
| QUADRO 10 - Tempo necessário para eliminar o inóculo em contato com os extratos vegetais hidroalcoólicos para <i>F. nucleatum</i> ATCC 25586 | 54 |
| QUADRO 11 - Tempo necessário para eliminar o inóculo em contato com os extratos vegetais aquosos para <i>F. nucleatum</i> ATCC 25586 | 54 |
| QUADRO 12 - Atividade inibitória de extratos vegetais hidroalcoólicos sobre biofilme microbiano..... | 55 |
| QUADRO 13 - Atividade inibitória de extratos vegetais aquosos sobre biofilme microbiano..... | 56 |
| QUADRO 14 - Títulos de hemaglutinação de <i>F. nucleatum</i> ATCC 10953 e ATCC 25586 na presença de diferentes extratos vegetais em concentrações subinibitórias..... | 57 |
| QUADRO 15 - Atividade hemolítica dos extratos vegetais aquosos testados..... | 101 |

LANDUCCI, L. F. **Atividade inibitória de extratos vegetais de plantas do cerrado brasileiro sobre microrganismos bucais**. 2005. 103f. Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal, Área Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar atividade antimicrobiana dos extratos vegetais de plantas do cerrado brasileiro sobre microrganismos bucais e a capacidade desses extratos inibirem a adesão de *Streptococcus mutans* ATCC 35688 e ATCC 1910 e inibirem a capacidade de hemaglutinação de *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953 e ATCC 25586. Para tanto, foram utilizadas 22 espécies de plantas de uso na medicina popular nas regiões de cerrado, das quais foram obtidos 33 extratos hidroalcoólicos e 33 extratos aquosos. Inicialmente foi realizada uma triagem para se determinar a atividade antimicrobiana dos extratos. Em seguida, foram realizados testes para avaliar a máxima diluição inibitória (MDI) dos por meio do método de diluição em caldo. Verificou-se também. A influência de concentrações subinibitórias sobre a adesão ao vidro das cepas de *S. mutans* foi avaliada utilizando-se diluição em caldo e bastões de vidro. A inibição da atividade hemaglutinante pelos extratos sobre as cepas de *F. nucleatum* foi determinada utilizando-se placas de microtitulação. Os resultados demonstraram que aproximadamente 27% dos extratos hidroalcoólicos e aquosos apresentaram alguma atividade antimicrobiana contra as cepas de *S. mutans* testadas e aproximadamente 24% dos extratos hidroalcoólicos e 15% dos extratos aquosos foram capazes de inibir o crescimento de pelo menos uma das cepas de *F. nucleatum* testadas. Concluiu-se que os extratos de aroeira, araçá, candeia, jacarandá e guajuvira foram os que mais afetaram a adesão microbiana de *S. mutans* e a maioria dos extratos não inibiram a capacidade hemaglutinante de *F. nucleatum*.

PALAVRAS – CHAVE: Plantas medicinais; *Streptococcus mutans*; adesão; hemaglutinação; *Fusobacterium nucleatum*.

1 INTRODUÇÃO

A maioria dos processos patológicos que acometem a cavidade bucal é de natureza infecciosa (ALALUUSUA et al.¹, 1991), merecendo destaque as periodontopatias e a cárie dental em função de suas elevadas prevalências e danos que causam ao aparelho estomatognático (DAROUT et al.²¹, 2002). Nessas doenças, tem-se a participação de diferentes grupos microbianos, que desempenham papéis específicos na etiopatogênese das mesmas (FEATHERSTONE³², 2000).

A patogênese da cárie dental está diretamente associada à produção de ácido orgânico, particularmente ácido lático, por microrganismos acidogênicos e acidúricos, levando à destruição das estruturas dentais adjacentes (CLANCY et al.¹⁵, 2000). Entretanto, para que esses microrganismos venham a participar de fato desse processo é necessário que os mesmos sejam capazes de aderir à estrutura dental, contribuindo para a elaboração do próprio biofilme microbiano, por meio da produção de polímeros extracelulares de carboidratos, como o dextrano e mutano, que estabilizam a adesão dos estreptococos do grupo *mutans* (GIBBONS & NYGAARD³⁷, 1968), os quais são intimamente implicados na etiopatogênese do processo carioso (GIBBONS & NYGAARD³⁷, 1968; WU-YUAN et al.¹¹⁷, 1988). A interferência na produção desses polissacarídeos pode prevenir a fase de acumulação desses cocos acidogênicos na superfície do elemento dental, reduzindo o potencial cariogênico do próprio biofilme (CIARDI et al.¹⁴, 1981).

A despeito da redução no índice CPOD observado em nosso país, com a implementação de numerosos programas preventivos em diferentes âmbitos da esfera social, novas modalidades preventivas

devem ser encontradas e pesquisadas e, uma vez declaradas eficazes, adicionadas ao arsenal preventivo disponível.

As doenças periodontais também representam patologias de natureza infecciosa e de caráter endógeno, associada ao desenvolvimento do biofilme subgengival. A doença periodontal crônica se agrava com a idade e o seu desenvolvimento pode ser reduzido parcial ou totalmente a partir da introdução de medidas de controle do biofilme bacteriano já que essas doenças são o resultado do desequilíbrio entre os fatores de virulência de algumas espécies bacterianas que colonizam a bolsa periodontal e a resistência do hospedeiro (SUNDQVIST & JOHANSSON¹⁰⁷, 1982; SLOTS & GENCO¹⁰², 1984; XIE et al.¹¹⁸, 1991).

Nesse sentido, Slots & Genco¹⁰² (1984) classificaram os fatores de virulência em três categorias: a) fatores relacionados com a capacidade dos microrganismos em colonizar o hospedeiro na presença de adesinas e da coagregação com outras espécies; b) fatores vinculados à capacidade do microrganismo em produzir danos teciduais através da produção de proteases, exo e endotoxinas, sulfeto de hidrogênio, amônia entre outros; c) fatores que estariam relacionados à evasão das defesas do hospedeiro.

Diferentes espécies bacterianas vêm sendo envolvidas na etiopatogênese das doenças periodontais, em particular os bastonetes Gram-negativos (MOORE & MOORE⁷², 1994), os quais exibem um papel essencial nas diferentes modalidades clínicas da doença periodontal, como *Porphyromonas gingivalis* na periodontite do adulto (SLOTS¹⁰¹, 1982), *Prevotella intermedia* associado com espiroquetas na gengivite necrosante e gengivite na gravidez (MOORE & MOORE⁷², 1994) e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, nas periodontites agressivas, relacionados a outros microrganismos Gram-positivos e negativos (CHRISTERSSON et al.¹³, 1987; HARASZTHY et al.⁴⁴, 2002).

Dentre os microrganismos periodontopatogênicos, desperta interesse *Fusobacterium nucleatum*, o qual pode atuar como uma ponte entre colonizadores iniciais da placa bacteriana, representados

basicamente por microrganismos do gênero *Streptococcus*, e os colonizadores finais, criando condições ambientais favoráveis para a implantação de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *Selenomonas* spp., possuindo, então, grande importância no estabelecimento de uma microbiota subgengival periodontopatogênica. Além desse aspecto, *F. nucleatum* tem capacidade de aderir a eritrócitos, linfócitos, neutrófilos, fibroblastos, células Hela, células epiteliais bucais, hidroxiapatita revestida por saliva ou estaterina e colágeno tipo IV, além de produzir compostos tóxicos como o sulfeto de hidrogênio e uma potente endotoxina (XIE et al.¹¹⁸, 1991; BOLSTAD et al.⁸, 1996; GAETTI-JARDIM JÚNIOR³⁵, 1997).

A prevenção das doenças periodontais baseia-se no controle da formação do biofilme microbiano, produzindo resultados bastante satisfatórios na maioria da população (MILGROM et al.⁷⁰, 2000). Porém, alguns pacientes continuam experimentando perdas de inserção conjuntiva a despeito de todas as modalidades de tratamento e de controle do biofilme, de forma que outras modalidades terapêuticas devem ser analisadas (QUIRYNEN et al.⁸⁸, 2002). Nessas condições, o emprego de coadjuvantes químicos no controle do biofilme (LANG & RÄBER⁵⁴, 1981) e durante a terapia periodontal (KLEINFELDER et al.⁵⁰, 2000) vêm recebendo grande atenção.

Na população em geral, existe um costume de considerar a utilização de ervas medicinais e outros produtos naturais como recursos farmacológicos eficientes no tratamento de patologias bucais, existindo também a idéia que estes compostos não causam efeitos colaterais. Em países como o Brasil, que concentra uma parcela significativa da biodiversidade vegetal do planeta, esses aspectos apresentam grande importância (VIEIRA & MARTINS¹¹³, 2000).

Merece destaque o fato de que apenas mínima parcela das denominadas “plantas medicinais” tenha sido avaliada em experimentos *in vitro* ou *in vivo* capazes de comprovar ou não sua eficácia, sendo que o ritmo de ocupação antrópica dos diferentes biomas

vegetais é infinitamente maior do que a capacidade de avaliação das propriedades biológicas das plantas que se extinguem, particularmente quando falamos de ecossistemas complexos e ricos como o cerrado brasileiro (BATALHA et al.⁷, 2001).

O bioma Cerrado possui uma flora estimada em sete mil espécies (MENDONÇA et al.⁶⁹, 1998, citado por VIEIRA & MARTINS¹¹³, 2000), sendo o segundo bioma brasileiro de maior diversidade vegetal (VIEIRA & MARTINS¹¹³, 2000). Entretanto, o crescimento populacional e a demanda por mais alimentos, associados às condições edafo-climáticas favoráveis do cerrado, transformaram essa região em importante área para atividades agropecuárias implicando em um ritmo acelerado de ocupação antrópica nas últimas décadas, levando a irreparável perda do patrimônio genético vegetal (VIEIRA & MARTINS¹¹³, 2000).

Extratos vegetais envolvidos no presente estudo são encontrados com grande frequência na dieta e medicina populares, sendo utilizados, por vezes, em quantidade elevada. Assim, avaliar a atividade antimicrobiana desses extratos pode permitir uma maior compreensão da influência que os mesmos exercem sobre a microbiota da cavidade bucal e também realizar um levantamento sobre a atividade antimicrobiana das plantas medicinais normalmente empregadas pela população do cerrado brasileiro.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Plantas medicinais

Historicamente, as plantas medicinais sempre foram objeto de estudo da farmacognosia, termo idealizado por Seydler, em 1815, para designar um dos ramos da farmacologia que se ocuparia dos estudos voltados para examinar e caracterizar as drogas ou bases medicamentosas de origem natural, utilizadas como matéria-prima para a preparação de medicamentos (RODRIGUES⁹², 1998).

Apesar do estudo das plantas medicinais ter surgido no século dezenove, acredita-se que a utilização das plantas como medicamento seja tão antiga quanto a própria humanidade (DI STASI²⁴, 1995; MARTINS et al.⁶⁷, 2000; LORENZI⁶², 2002; VOLPATO et al.¹¹⁵, 2002). O uso de recursos naturais por populações é orientado por um conjunto de conhecimentos acumulados, resultantes da relação direta de seus membros com o meio ambiente, motivada por um modo de vida que ainda guarda acentuada dependência da natureza próxima (CASTELLUCCI et al.¹⁰, 2000). Numerosas etapas marcaram essa evolução da arte de curar, porém, torna-se difícil delimitá-las com exatidão, já que a medicina esteve por muito tempo associada às práticas mágicas, místicas e ritualísticas (CORDEIRO et al.¹⁶, 1996).

A busca de novos medicamentos em plantas é, hoje, a esperança mais concreta para pacientes que possuem doenças graves. A indústria farmacêutica chega a gastar somas elevadas e anos de trabalho na pesquisa de novas drogas. Para o tratamento do câncer, por exemplo, já foram testadas mais de um milhão de formulações produzidas

em laboratório, e, dessas, apenas 15 agiram eficazmente contra a doença (SANTOS⁹⁶, 1996, citado por CASTRO & FERREIRA¹¹, 2001). A alternativa mais rápida e barata, portanto, são as plantas que produzem substâncias químicas que podem ser usadas como medicamentos. Partindo dos vegetais, as chances de acerto são de uma para cinco mil tentativas (SANTOS⁹⁶, 1996, citado por CASTRO & FERREIRA¹¹, 2001).

A importância dos produtos naturais na formulação dos medicamentos pode ser vista quando se considera que, mesmo nos países industrializados, 45% dos produtos farmacêuticos provêm de produtos naturais. Essa proporção é ainda maior nos países em desenvolvimento, ainda, segundo CECHINEL FILHO & YUNES,¹² (1998), cerca de um quarto das prescrições médicas nos Estados Unidos, em 1973, continha um ou mais ingredientes ativos de origem vegetal.

A Organização Mundial da Saúde (OMS), visando diminuir o número de excluídos dos sistemas governamentais de saúde, recomenda aos órgãos responsáveis pela saúde pública de cada país, que: a) procedam levantamentos regionais das plantas usadas na medicina popular tradicional; b) estimulem e recomendem o uso daquelas plantas que tiverem comprovada eficácia e segurança terapêuticas; c) desaconselhem o emprego das práticas da medicina popular consideradas inúteis ou prejudiciais; d) desenvolvam programas que permitam cultivar e utilizar as espécies vegetais na forma de preparações dotadas de eficácia, segurança e qualidade (LORENZI⁶², 2002). Ainda segundo a OMS, as plantas medicinais seriam a maior e melhor fonte de obtenção de fármacos para a humanidade (SANTOS et al.⁹⁶, 1995, citado por CASTRO & FERREIRA¹¹, 2001).

Na China, a interação dos conhecimentos tradicionais com a visão científico-tecnológica contemporânea tem-se mostrado altamente vantajosa. No período entre 1956 e 1986, foram lançados 60 novos medicamentos com base em informações etnofarmacológicas.

Esse número representa 59% de todos os produtos farmacêuticos chineses desenvolvidos no mesmo período (MARTINS et al.⁶⁷, 2000).

Rodrigues⁹² (1998), em trabalho sobre a etnofarmacologia no parque do Jaú, AM, obteve 519 citações de receitas de remédios caseiros elaborados a partir de associações esporádicas de plantas, animais e minerais. Mais da metade desses remédios (66,13%) é usada na forma de chás (infuso e decocto) e tinturas (extrato e xarope), seguido pelo uso tópico (26,85%) nas formas de compressa e emplastro. As 83 indicações terapêuticas citadas no trabalho abrangem em ordem decrescente de citações: febres, vermes, *doença do ar*, picadas de cobra, dor de estômago, disenteria, icterícia, tosse, facilitadores de trabalho de parto, problemas hepáticos e gripe. Ainda no Brasil, Garcia³⁶ (1998) avaliou a existência de numerosas plantas do cerrado empregadas pelos índios guarani-kaiová no tratamento de patologias infecciosas e inflamatórias, faltando, entretanto, a realização de ensaios experimentais que comprovem o conhecimento etnobotânico registrado.

2.2 Plantas medicinais no Brasil

No Brasil, a utilização de plantas no tratamento de doenças apresenta, fundamentalmente, influências da cultura européia, africana e, naturalmente, indígena (MARTINS et al.⁶⁷, 2000). Até o século vinte, o Brasil era um país essencialmente rural, com amplo uso da flora medicinal, tanto nativa quanto a introduzida. Entretanto, o conhecimento tradicional passou a ser posto em segundo plano com o início da industrialização e subsequente urbanização do país.

As primeiras informações sobre a flora medicinal brasileira datam do século dezoito, com relatos feitos por José Mariano da Conceição Velloso (frei Velloso – 1742-1811) e do naturalista e professor da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro, Francisco Cysneiros Freire

Allemão (1797-1874). No entanto, o trabalho mais significativo sobre as plantas medicinais da flora brasileira foi publicado em 1843 por Karl Friedrich Philipp von Martius (1794-1868), intitulado “*Systema Materiae Medicae Vegetabilis Brasiliensis*” (LORENZI & MATOS⁶³, 2002). No século vinte, a maioria das publicações constitui-se de compilações de trabalhos antigos de caráter regional (LORENZI & MATOS⁶³, 2002). Atualmente, devido à preocupação com a biodiversidade e as idéias de desenvolvimento sustentável, surgiram novos motivos para o estudo das plantas medicinais, as quais, no Brasil, têm sido utilizadas em várias áreas da saúde como forma de alternativa de tratamento e prevenção (DI STASI²⁴, 1995).

Existem controvérsias, oriundas principalmente da imprecisão de dados e da falta de pesquisa, sobre o número de espécies vegetais existentes no Brasil. Segundo Maciel et al.⁶⁴ (2002), o Brasil é o país com maior número de espécies vegetais no mundo, muitas com potencial para obtenção de novas drogas. Pouco se sabe sobre a composição química de 99,6% de nossa flora, sendo que a despeito dos mais de cinquenta anos de pesquisas de plantas medicinais no Brasil, o número de espécies estudadas é muito reduzido (SOUZA BRITO & SOUZA BRITO¹⁰³, 1993, citado por GUARIM NETO & MORAIS⁴¹, 2003).

Nos últimos vinte anos no Brasil, o número de informações sobre plantas medicinais tem crescido 8% anualmente (GUARIM NETO & MORAIS⁴¹, 2003). Isso mostra que um país biologicamente tão rico, mas com ecossistemas tão ameaçados, pesquisas com plantas medicinais devem ser incentivadas. Afinal, elas poderiam levar à reorganização das estruturas de uso dos recursos naturais (em vista da necessidade de sua extração estar associada aos planos de manejo) e crescimento econômico, visto que há grande tendência mundial de aumento na utilização de fitoterápicos (GUARIM NETO & MORAIS⁴¹, 2003).

2.3 Cerrado brasileiro e plantas medicinais do cerrado

O cerrado é o segundo bioma brasileiro de maior diversidade vegetal com, aproximadamente, sete mil espécies vegetais (MENDONÇA et al.⁶⁹, 1998) e cobria, originalmente, uma região estimada em dois milhões e quatrocentos mil quilômetros quadrados, em sua maioria na região central do Brasil. A presença de diferentes tipos de solo, relevo e clima resultaram na existência de uma vegetação variada e complexa, constituída predominantemente por cerrado (ou savana) - o tipo de vegetação que domina a paisagem do Planalto Central do Brasil, revestindo grandes extensões dos estados de Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Tocantins e Piauí, alcançando boa parte dos estados do Maranhão, Mato Grosso do Sul, Bahia e São Paulo.

Para Guarim Neto & Morais⁴¹ (2003) o cerrado é o mais brasileiro dos biomas sul-americanos, pois, excetuando-se algumas pequenas áreas na Bolívia e Paraguai, ele é totalmente inserido no território nacional. Este bioma é apontado como grande detentor de diversidade biológica, sendo a formação savânica com maior diversidade vegetal do mundo, especialmente quando se consideram as espécies lenhosas (GUARIM NETO & MORAIS⁴¹, 2003). Amorozo³ (2002) divide o cerrado com relação à vegetação predominante em: campo limpo; campo sujo; campo cerrado; cerrado sentido restrito e cerradão - mas com significativa presença de florestas de galerias; florestas mesofíticas de interflúvio (florestas sazonais) e veredas, dentre outros tipos de vegetação.

Ainda há carências de estudos voltados para a identificação de plantas úteis do Cerrado, principalmente quando comparada à diversidade e à área outrora ocupada. O desconhecimento de sua riqueza e possibilidades se agrava quando se estima que parcela

significativa do bioma já tenha sido devastada e que o cerrado possui somente 1,5% de sua extensão protegida por lei, sendo atualmente a vegetação de maior risco no país (ANDERSON et al.⁴, 2003). É preciso considerar que os recursos naturais oferecidos por ele, uma vez extintos, estarão indisponíveis às futuras gerações (GUARIM NETO & MORAIS⁴¹, 2003).

Apesar de largamente difundido o uso de plantas medicinais na região do cerrado brasileiro, poucos estudos etnobotânicos têm sido realizados e publicados, não comprovando todas as qualidades curativas das plantas medicinais, permanecendo apenas o reconhecimento terapêutico popular (LOPES et al.⁶⁰, 2001).

Há, possivelmente, mais espécies vegetais (diversidade específica) em áreas amostrais de Floresta Amazônica que nas de cerrado de mesmo tamanho, salientando, porém, que a diversidade taxonômica é certamente muito maior no último. Essa diversidade relativa aos táxons mais elevados (gênero, família e ordem) mostra a importância do cerrado para pesquisas com plantas medicinais. Isso porque, quanto maior é a diversidade taxonômica em níveis superiores, maior é o distanciamento filogenético entre as espécies e maior é a diferença e diversidade química entre elas. Por isso, a gama e o potencial de compostos bioativos produzidos pelas espécies do cerrado seriam maiores que as da Floresta Amazônica (GUARIM NETO & MORAIS⁴¹, 2003).

2.4 Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre diversos microrganismos

Anesini & Peres⁵ (1993) pesquisaram a atividade antimicrobiana de 122 espécies de plantas medicinais da flora Argentina contra microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos e fungos.

Observaram que 12 espécies de plantas apresentaram atividade antimicrobiana sobre *S. aureus* - penicilina G resistentes, dez foram ativos contra *E. coli* e quatro mostraram atividade contra *Aspergillus niger*. De forma semelhante, Izzo et al.⁴⁵ (1995) estudaram a atividade antimicrobiana de 68 extratos de plantas usadas na medicina popular da Itália. Os resultados mostraram que de 68 extratos pesquisados, 64 (94,1%) apresentaram atividade inibitórias contra uma ou mais espécies microbianas.

Lima et al.⁵⁶ (2000), estudando a atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca de castanha de caju sobre microrganismos bucais, observaram que os ácidos anacárdicos apresentaram atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC 12598), *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida utilis* e principalmente *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), que foi o microrganismo mais inibido.

Limsong et al.⁵⁷ (2004) observaram a diminuição da atividade da enzima glicosiltransferase de *S. mutans* ATCC 25175 e TPF-1 quando submeteram esses microrganismos ao contato com extratos hidroalcoólicos de *Andrographis paniculata*, *Cássia alata*, chá preto chinês (*Camellia sinensis*), goiaba (*Psidium guajava*), *Harrisonia perforata* e *Streblus asper*.

O isolamento de produtos naturais, a partir de extratos de plantas medicinais, com atividade anticariogênica e antiplaca tem sido demonstrado, sendo que, por exemplo, o tanino obtido do chá foi capaz de inibir o crescimento e a atividade da enzima glicosiltransferase (GTF) de *S. mutans* (PAOLINO et al.⁸⁴, 1980; ELVIN-LEWIS et al.²⁷, 1980; KASHKET et al.⁴⁹, 1985). Navarro et al.⁷⁶ (1998) avaliaram a eficácia clínica anticariogênica de uma preparação fitoterápica à base de Tanchagem (*Plantago major*), para uso diário em bochechos na forma de colutório, comparada com clorexidina. Os autores observaram redução dos escores dos índices de placa bacteriana tanto para o grupo que

utilizou clorexidina quanto para o que utilizou Tanchagem, sendo as características de substantividade semelhantes entre as duas substâncias testadas.

Jagtap & Karkera⁴⁶ (1999) verificaram que o extrato aquoso de *Terminalia chebula* (planta medicinal da Índia), foi capaz de reduzir significativamente os níveis de estreptococos na saliva e manteve sua ação inibitória por três horas após sua utilização. Os autores verificaram que o extrato foi capaz de inibir a proliferação e adesão de *S. mutans*.

Em estudo sobre a atividade anticariogênica de extratos obtidos de cascas de sementes de cacau, Ooshima et al.⁸⁰ (2000) observaram que o extrato obtido foi capaz de inibir a atividade da enzima glicosiltransferase e a produção de ácidos por *S. mutans* MT8148R e *S. sobrinus* 6715.

Koo et al.⁵² (2000) estudando sobre atividade antimicrobiana *in vitro* de extrato obtido de arnica (*Arnica montana*) observaram atividade contra todos os microrganismos testados (*C. albicans*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. sobrinus*, *S. sanguis*, *S. cricetus*, *S. mutans*, *A. naeslundii*, *A. viscosus*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis* e *P. dentícola*), no entanto o extrato não foi capaz de inibir a produção de polissacarídeos extracelulares por *S. mutans*.

Por milhares de anos na China, medicamentos contendo extratos de plantas medicinais têm sido usados para o tratamento de cáries e doença periodontal. A efetividade desses como medicamentos antiinflamatórios tem sido demonstrada, além de suas atividades antibacterianas para microrganismos bucais (WU-YUAN et al.¹¹⁷, 1988).

Estudos têm sido realizados verificando-se a atividade antimicrobiana de extratos vegetais (NASCIMENTO et al.⁷⁴, 2000; PALOMBO & SAMPLE⁸³, 2001; OLIVEIRA et al.⁷⁹, 2003), no entanto

poucos são aqueles que utilizam microrganismos da cavidade bucal que estão envolvidos com doença periodontal e cárie.

2.5 *Streptococcus mutans*

Apesar da prevalência da cárie dentária em crianças ter declinado na maioria dos países ocidentais nos últimos vinte anos, essa doença continua sendo um dos maiores problemas de saúde pública no mundo (FEATHERSTONE³², 2000). O processo cariioso tem sido intensamente estudado e descrito (MARSH⁶⁶, 1999; CLANCY et al.¹⁵, 2000; FEATHERSTONE³², 2000), sendo caracterizado como uma destruição localizada do tecido dentário por ácidos, particularmente o ácido lático, produzido através da fermentação de carboidratos por microrganismos presentes no biofilme bacteriano (MARSH⁶⁶, 1999; CLANCY et al.¹⁵, 2000).

Os dois mais importantes grupos de bactérias bucais que predominantemente produzem ácido lático são estreptococos do grupo *mutans* e lactobacilos. Esses dois grupos de bactérias, atuando em conjunto ou isoladamente, são os principais agentes microbianos da cárie dentária (FEATHERSTONE³², 2000). Estreptococos do grupo *mutans* são os principais responsáveis pela cárie de superfície lisa, uma vez que possuem a capacidade de aderir, colonizar, sintetizar polissacarídeos extracelulares e produzir ácidos na superfície dental (CIARDI et al.¹⁴, 1981; FUKUSHIMA et al.³⁴, 1981; WU-YUAN et al.¹¹⁷, 1988).

Segundo Gibbons & Nygaard³⁷ (1968), a aderência desses cocos na superfície do dente e subsequente formação do biofilme ocorrem em dois estágios. O primeiro estágio é a aderência reversível da célula bacteriana à película adquirida presente na superfície do esmalte e o segundo estágio é a acumulação de *S. mutans* através da sua proliferação e produção de glucanos extracelulares. A interferência em

alguns desses mecanismos pode reduzir ou prevenir a formação da cárie dentária (CIARDI et al.¹⁴, 1981).

A adesão de células bacterianas à superfície dental é de fundamental importância para o início da lesão cáriosa. Glucanos extracelulares insolúveis são os principais responsáveis por esse fenômeno e também pela coesão intercelular entre bactérias diferentes como, por exemplo, estreptococos e *Actinomyces* (NEWBRUN et al.⁷⁷, 1977). A síntese de glucanos extracelulares insolúveis resulta da ação da enzima glicosiltransferase sobre a sacarose (GIBBONS & NYGAARD³⁷, 1968; NEWBRUN et al.⁷⁷, 1977; FUKUSHIMA et al.³⁴, 1981; WOLINSKY & SOTE¹¹⁶, 1984; WU-YUAN et al.¹¹⁷, 1988). Essa enzima pode ser encontrada na superfície desses cocos, bem como no seu citoplasma (NEWBRUN et al.⁷⁷, 1977).

Os níveis salivares desses cocos cariogênicos parecem refletir, com maior ou menor propriedade, o risco à cárie do indivíduo, o que facilita o acompanhamento da estratégia preventiva instituída, bem como a resposta da microbiota às mesmas, particularmente em populações que recebem atenção precoce.

3.6 *Fusobacterium nucleatum*

As doenças periodontais representam uma das principais causas da perda precoce dos dentes, agravando-se com a idade e, situando-se entre os principais problemas sócio-econômicos e de saúde pública mundiais, acometendo todas as classes sociais, sem distinção de gênero ou raça (LISTGARTEN⁵⁸, 1992). Moore & Moore⁷² (1994), em extensa revisão de literatura, incluíram *F. nucleatum* no conjunto de periodontopatógenos, podendo o microrganismo estar envolvido na

patogênese das diferentes modalidades de periodontopatias, desde gengivite até a periodontite crônica (ROGERS et al.⁹³, 1991).

Bactérias do gênero *Fusobacterium* constituem o segundo grupo microbiano anaeróbio mais freqüentemente isolado da microbiota humana e animal, destacando-se *Fusobacterium nucleatum* (DEMUTH et al.²², 1996) que pode ser comumente isolado de infecções em variados locais do organismo humano e em outros animais.

Essa espécie está presente como parte importante do biofilme bacteriano (COSTA et al.¹⁷, 1974), na iniciação da gengivite (MOORE et al.⁷³, 1982) podendo ser isolada de casos de bacteremia (EDSON et al.²⁶, 1982), infecções do trato urinário (RIBOT et al.⁹¹, 1981), apendicite (RAUTIO et al.⁸⁹, 2002), bronquite crônica (BROOK & FRAZIER⁹, 2001), pericardites (TRUANT et al.¹¹⁰, 1983), abscessos peritonsilares (JOUSEMIES-SOMER et al.⁴⁷, 1993), abscessos cerebrais e osteomielites (DARENFED et al.²⁰, 1999), artrites sépticas (GONZÁLES-GAY et al.³⁹, 1993), abscessos alveolares e doença periodontal (VAN PALENSTEIN HELDERMAN¹¹², 1975; MANGAN et al.⁶⁵, 1989; BOLSTAD et al.⁸, 1996), além de outras infecções na região de cabeça e pescoço, como infecções pulpares (SUNDQVIST¹⁰⁶, 1992; GOMES et al.³⁸, 1994) e periapicais (PETERS et al.⁸⁷, 2001).

Kolenbrander & London⁵¹ (1993) propuseram que essa fusobacteria poderia atuar como ponte entre colonizadores iniciais do biofilme bacteriano, os quais aderem à película adquirida na superfície do dente e coagregam-se com outros microrganismos e colonizadores tardios, os quais não aderem a hidroxiapatita coberta por saliva ou o fazem pobremente.

Oguntebi et al.⁷⁸ (1982) demonstraram a variabilidade da microbiota bacteriana em abscessos periapicais. Nesses processos, anaeróbios foram observados em 80% das lesões, sendo que anaeróbios obrigatórios correspondiam a 48% dos isolados. *Fusobacterium* sp. e estreptococos foram isolados como co-infectantes em seis dos dez abscessos estudados. Nessa linha, Farber & Seltzer³¹ (1988) e Vigil et

al.¹¹⁴ (1997) confirmaram o relevante papel de bactérias anaeróbias em abscessos periapicais, sendo que *F. nucleatum* é um dos mais freqüentes patógenos observados.

Kuriyama et al.⁵³ (2000) observaram que *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella* e *Porphyromonas* são freqüentemente isolados de infecções orofaciais de origem odontogênica, enquanto Jung et al.⁴⁸ (2000), estudando a associação de patógenos nas infecções de canais radiculares através de PCR (Polymerase Chain Reaction), observaram que o microrganismo mais freqüentemente encontrado foi *Fusobacterium* sp. (68,4%).

Observando-se a presença de periodontopatógenos nas infecções endodônticas, Rupf et al.⁹⁵ (2000) verificaram, por meio de PCR, que *F. nucleatum* foi detectado em 45% das amostras oriundas de canais radiculares de dentes em que esse anaeróbio colonizava o periodonto marginal.

Roques et al.⁹⁴ (2000) observaram que, dos isolados clínicos obtidos de pacientes adultos com doença periodontal, a subespécie mais freqüentemente encontrada foi *F. nucleatum* subsp. *nucleatum* (17/49), seguida pelo *F. nucleatum* subsp. *vincentii* (13/49), *F. nucleatum* subsp. *polymorphum* (11/49) e finalmente *F. nucleatum* subsp. *fusiforme* (8/49).

De acordo com Babu et al.⁶ (1995), *F. nucleatum* foi capaz de aderir a células epiteliais gengivais, as quais estavam revestidas com fibronectina, demonstrando que essa proteína poderia ter um importante papel no processo de colonização da cavidade bucal pelo *F. nucleatum*.

De acordo com Falkler Júnior & Hawley²⁹ (1977), os isolados orais de *F. nucleatum* demonstraram capacidade de aglutinar eritrócitos humanos e de animais como coelhos, macacos, eqüinos, caprinos e bovinos. Outros membros do gênero que foram testados (*F. necrophorus*, *F. varium* e *F. mortiferum*) demonstraram pouca ou nenhuma habilidade de hemaglutinar. Os autores não observaram a

presença de fímbrias e sugeriram uma ligação proteína-carboidrato no mecanismo de adesão do *F. nucleatum*. Entretanto, Mongiello & Falkler Júnior⁷¹ (1979) demonstraram a inibição dessa atividade hemaglutinante pela adição de açúcares contendo D-galactose e N-acetil-D-galactosamina, o mesmo ocorrendo com a capacidade desse anaeróbio em coagregar-se com outros membros do biofilme bacteriano bucal (FALKLER & BURGER²⁸, 1981).

Peros & Gibbons⁸⁶ (1982) demonstraram que a capacidade hemaglutinante de *F. nucleatum* AB4 foi diminuída por concentrações subinibitórias de vancomicina e tetraciclina e aumentada por penicilina G. Antimicrobianos como a estreptomicina, clindamicina, eritromicina, cloranfenicol e neomicina não alteraram a capacidade hemaglutinante.

Ozaki et al.⁸² (1990), estudando a aderência de cepas de *F. nucleatum* a eritrócitos humanos, neutrófilos, fibroblastos e células HeLa, não encontraram diferenças na capacidade hemaglutinante entre grupos sanguíneos diferentes, observando que houve aderência a neutrófilos, fibroblastos e células HeLa.

Han et al.⁴³ (2000), avaliaram a habilidade de bactérias Gram-negativas anaeróbias em aderir e invadir células epiteliais gengivais humanas. Demonstraram que *F. nucleatum* possui capacidade de aderir e invadir essas células, o que é acompanhado por elevada secreção de interleucina-8 (IL-8) pelas células epiteliais, observando também que o mecanismo de adesão e internalização envolveu a participação de proteínas do citoesqueleto, sinais de transdução, síntese de proteínas e metabolismo energético, tanto do microrganismo quanto das células epiteliais gengivais.

Falkler Júnior et al.³⁰ (1983) e Haake & Lindemann⁴² (1997) observaram que a parede celular de *F. nucleatum* possui a capacidade de aderir a polimorfonucleares neutrófilos (PMNs). A adsorção à parede celular de neutrófilos foi inibida pela presença da galactose,

sugerindo que o fator de aderência é semelhante às lectinas e localiza-se na parede celular.

3 PROPOSIÇÃO

Tendo em vista a grande importância que plantas medicinais do cerrado brasileiro possuem para a população das regiões onde há o predomínio desse bioma e a grande frequência com que são utilizados como recursos terapêuticos, esse estudo tem como objetivos:

- a) avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos vegetais de plantas medicinais do cerrado brasileiro sobre microrganismos bucais;
- b) avaliar a capacidade desses extratos inibirem a adesão de *Streptococcus mutans* (ATCC 35688 e ATCC 1910) ao vidro e a capacidade de hemaglutinação de *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 10953 e ATCC 25586).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Microrganismos

Foram utilizados *Streptococcus mutans* ATCC 35688 e *S. mutans* ATCC 1910, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953 e *F. nucleatum* ATCC 25586, cultivados em caldo Infuso de Cérebro Coração (BHI - Difco - Becton Dickinson and Co., USA) enriquecido com 0,5% de extrato de levedura e mantidos em condições de microaerofilia (*S. mutans* ATCC 35688 e ATCC 1910) e anaerobiose (*F. nucleatum* ATCC 10953 e ATCC 25586), a uma temperatura de 37°C. Os microrganismos também foram mantidos em caldo de tioglicolato e repiques mensais (*F. nucleatum*) e em sangue.

4.2 Preparo dos extratos vegetais

4.2.1 Plantas Medicinais do Cerrado utilizadas nos testes

Foram preparados extratos vegetais das espécies listadas no Quadro 1, divididas por família, espécie, parte utilizada na medicina popular e nome popular. A escolha das espécies de plantas utilizadas seguiu as recomendações da população das áreas geográficas visitadas.

As principais formas de utilização das plantas medicinais pela população do cerrado encontram-se listadas no Anexo A.

As folhas das espécies vegetais utilizadas foram colhidas de plantas com aspecto sadio e bom desenvolvimento, sem sinais de envelhecimento, doenças e pragas. As cascas do caule foram colhidas de plantas adultas e sadias, em pequenos pedaços, apenas de um dos lados da planta. Antes de retirá-las, foi realizada uma leve raspagem para remover a superfície impregnada com poeira ou insetos. As cascas foram, em seguida, lavadas em água corrente e colocadas para secar no ambiente local (MATOS⁶⁸, 2002).

As plantas foram coletadas em áreas não desmatadas e mantidas como reserva permanente em propriedades rurais dos municípios de Carolina (MA) (Anexo C, Figuras 1 e 2) e Camapuã (MS) (Anexo C, Figuras 3 e 4). O período da coleta correspondeu ao período chuvoso (dezembro a fevereiro) dos anos de 2002 e 2003, por facilidade de acesso.

Quadro 1 – Relação de espécies do cerrado de uso na medicina popular, empregadas no presente estudo, de acordo com família, espécie, parte da planta utilizada, nome popular (continua)

| Família | Espécie | Parte utilizada | Nome popular |
|----------------------|-------------------------------|-------------------------|---------------------|
| <i>Anacardiaceae</i> | <i>Anacardium giganteum</i> | Folha | Cajuaçu |
| <i>Anacardiaceae</i> | <i>Anacardium occidentale</i> | Folha | Caju |
| <i>Anacardiaceae</i> | <i>Myracrodruon urundeuva</i> | Casca do caule e folhas | Aroeira |
| <i>Asteareceae</i> | <i>Solidago chilensis</i> | Caule | Arnica |
| <i>Bignoniaceae</i> | <i>Jacaranda cuspidifolia</i> | Folha | Caroba |

Quadro 1 - Relação de espécies do cerrado de uso na medicina popular, empregadas no presente estudo, de acordo com família, espécie, parte da planta utilizada e nome popular (conclusão)

| Família | Espécie | Parte utilizada | Nome popular |
|-----------------------|---------------------------------|-------------------------|----------------------|
| <i>Bignoniaceae</i> | <i>Tabebuia impetiginosa</i> | Casca do caule e folhas | Ipê-roxo |
| <i>Bignoniaceae</i> | <i>Tabebuia ochracea</i> | Casca do caule e folha | Ipê-amarelo |
| <i>Bignoniaceae</i> | <i>Tabebuia róseo-alba</i> | Casca do caule e folha | Ipê-branco |
| <i>Boraginaceae</i> | <i>Cordia glabrata</i> | Casca do caule e folhas | Louro-de-mato-grosso |
| <i>Boraginaceae</i> | <i>Patagonula americana</i> | Folhas | Guajuvira |
| <i>Caryocaraceae</i> | <i>Caryocar brasiliense</i> | Casca do caule e folhas | Pequi |
| <i>Celastraceae</i> | <i>Maytenus ilicifolia</i> | Caule | Cancerosa |
| <i>Combretaceae</i> | <i>Terminalia argentea</i> | Casca do caule | Capitão-do-campo |
| <i>Compositae</i> | <i>Piptocarpha rotundifolia</i> | Casca do caule e folhas | Candeia |
| <i>Leguminosae</i> | <i>Diptychandra aurantiaca</i> | Casca do caule e folhas | Balsaminho |
| <i>Leguminosae</i> | <i>Platypodium elegans</i> | Casca do caule | Jacarandá |
| <i>Meliaceae</i> | <i>Cedrela fissilis</i> | Casca | Cedro |
| <i>Mimosaceaea</i> | <i>Anadenanthera falcata</i> | Casca do caule e folhas | Angico |
| <i>Moraceae</i> | <i>Ficus enormis</i> | Casca do caule e folhas | Figueira |
| <i>Myrtaceae</i> | <i>Psidium cattleianum</i> | Casca do caule e folhas | Araçá |
| <i>Phytolaccaceae</i> | <i>Gallesia integrifolia</i> | Folhas | Pau d'algo |
| <i>Proteaceae</i> | <i>Roupala brasiliensis</i> | Folhas | Carne-de-vaca |

4.2.2 Preparo de extratos hidroalcoólicos dos vegetais

Os extratos hidroalcoólicos foram obtidos de acordo com metodologia empregada por Navarro et al.⁷⁶ (1998). Após secagem inicial em locais ventilados em temperatura ambiente (média 27°C) (Anexo C, Figura 5), as folhas e cascas dos caules foram submetidas à secagem em estufa (Anexo C, Figura 6), até o ponto em que as folhas e cascas dos caules apresentavam-se secos e quebradiços. A seguir, pesaram-se 25 gramas de cada vegetal em balança semi-analítica. Apenas o material em bom estado de conservação ou representativo foi utilizado nesta operação (Anexos C, Figuras 7 e 8).

A seguir, realizou-se a etapa de fragmentação, que consistiu na divisão das plantas em partículas grosseiras, de tamanho homogêneo, por meio de trituração manual. Cada planta fragmentada foi transferida para frascos âmbar (250mL) identificados por códigos. Adicionou-se então, 125mL de etanol 80% (preparado com auxílio de alcoômetro). Os frascos foram agitados vigorosa e manualmente por três minutos. Esta operação foi realizada cinco vezes ao dia durante 12 dias, para assegurar a adequada extração dos princípios ativos.

Finalmente, procedeu-se a filtração das preparações por meio de filtração comum (auxílio de suporte e argolas). O produto resultante, denominado macerado, foi transferido a frascos âmbar (100mL). Foi obtido um mínimo de 25mL de macerado para cada droga vegetal pesquisada. Os extratos foram esterilizados por filtração em membranas de éster de celulose Millipore 0,22µm e imediatamente utilizado nos testes.

4.2.3 Preparo de extratos aquosos dos vegetais

Os extratos aquosos dos vegetais (Quadro 1) foram preparados de acordo com metodologia descrita por Tsuchiya et al.¹¹¹ (1994). Para tanto, 100 gramas de folhas ou cascas e caules, de cada planta foram adicionadas a 100mL de solução salina fosfatada tamponada a 0,1M (PBS) (Anexo B) e mantidas por 5 minutos a 100°C, por 1 hora a 55°C e por 72 horas em temperatura ambiente. Cada mistura foi agitada a cada 24 horas. Os extratos aquosos foram purificados por meio de filtração fracionada em membranas de éster de celulose de porosidade 0,65µm e esterilizados por filtração em membranas de 0,22µm (Millipore) e imediatamente utilizados nos testes.

4.3 Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais

Inicialmente, foram executados testes para verificar a eficácia da atividade antimicrobiana das variadas espécies vegetais contra microrganismos bucais, a fim de otimizar os testes subseqüentes.

De acordo com metodologia descrita por Nascimento et al.⁷⁴ (2000), as culturas bacterianas desenvolvidas em caldo infuso de cérebro e coração (BHI) acrescido de 0,5% de extrato de levedura e mantidas a 37°C, por 48 horas, foram comparadas com o tubo cinco da escala de McFarland, 10⁶ céls. bact./mL, sendo 0,1mL transferido para as placas contendo ágar infuso de cérebro e coração acrescido de 0,5% de extrato de levedura. Subseqüentemente, discos de papel de filtro, com seis milímetros de diâmetro, saturados com cada extrato a ser testado

(20µL) foram colocados na superfície de cada placa, sendo posicionados quatro por placa.

Os discos de papel, testes e controles, foram mantidos por 12 horas em estufa (37°C) antes dos testes realizados, para evaporação do álcool presente. Todos os testes foram realizados em dez repetições. As placas foram incubadas a 37°C, em microaerofilia (*S. mutans* ATCC 35688 e ATCC 1910) ou anaerobiose (*F. nucleatum* ATCC 10953 e ATCC 25556) por 48 horas verificando-se, a seguir, a presença ou não de halos de inibição. A presença de zonas de inibição do crescimento bacteriano foi observada com auxílio de lupa estereoscópica. Todos os extratos que produziram halos iguais ou superiores a sete milímetros foram considerados como inibidores das cepas bacterianas testadas e posteriormente submetidos a testes para avaliar a cinética de sua atividade inibitória e a máxima diluição dos extratos capazes de inibir o crescimento bacteriano.

Como controle positivo empregou-se álcool 70% e solução de polivinilpirrolidona iodada e hipoclorito de sódio a 1%. Como controle negativo para a atividade inibitória foi empregado discos de papel de filtro embebidos previamente em caldo infuso de cérebro e coração.

4.4 Determinação da máxima diluição inibitória (MDI) dos extratos vegetais

Para a determinação da MDI de cada extrato vegetal testado (que apresentaram atividade inibitória no teste de difusão em ágar), foi utilizado o método de diluição em caldo. Os extratos vegetais foram adicionados a tubos contendo caldo BHI, acrescido com 0,5% de extrato de levedura, previamente inoculados com 10^5 UFC das cepas

testadas, de forma a representarem 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 e 1/128 da concentração original. A seguir os tubos foram incubados em condições de microaerofilia (*S. mutans* ATCC 35688 e ATCC 1910) e anaerobiose (*F. nucleatum* ATCC 10953 e ATCC 25586) em dessecadores de vidro do tipo Pyrex a 37°C, por 48 horas. Conceituou-se a máxima diluição inibitória do extrato vegetal como sendo a maior diluição do extrato testado capaz de inibir totalmente o crescimento microbiano. Como controle utilizou-se o próprio caldo BHI suplementado com 0,5% de extrato de levedura e inoculado com as cepas teste.

4.5 Ação inibitória de contato

Foi avaliada de acordo com a metodologia empregada por Sundqvist & Johansson¹⁰⁷ (1982) para testes de susceptibilidade ao soro.

As células bacterianas foram cultivadas em caldo peptona extrato de levedura (PY) (Anexo B) com 1% de sacarose, a 37°C, por 48 horas em condições de microaerofilia (*S. mutans* ATCC 35688 e ATCC 1910) e anaerobiose (*F. nucleatum* ATCC 10953 e ATCC 25586). Alíquotas de 0,1mL foram centrifugados em tubos Eppendorf 3000xg por três minutos e lavadas três vezes em tampão fosfato (PBS), pH 7,2.

A seguir, foi removida, cuidadosamente, a solução salina fosfatada tamponada e ao inóculo resultante (10^6 UFC) foi adicionado 1,5mL do extrato vegetal a ser testado (que apresentaram atividade inibitória no teste de difusão em ágar). A mistura foi incubada a 37°C, em microaerofilia (*S. mutans* ATCC 35688 e ATCC 1910) e anaerobiose (*F. nucleatum* ATCC 10953 e ATCC 25586) por 5, 10, 20, 30 e 60 minutos, 2 horas, 1, 7 e 14 dias.

Alíquotas de 0,1mL dessa mistura foram removidas, submetidas a diluições seriadas em PBS e inoculadas em placas com ágar sangue (ágar BHI acrescido de sangue desfibrinado de cavalo a

5%). As placas foram incubadas a 37°C, em microaerofilia (*S. mutans* ATCC 35688 e ATCC 1910) e anaerobiose (*F. nucleatum* ATCC 10953 e ATCC 25586) por 72 horas. Após o que, procedeu-se a leitura dos resultados por meio de contagem do número de colônias, em que uma diminuição maior ou igual a 90% do inóculo bacteriano, em relação ao controle, indicou atividade inibitória de contato do extrato vegetal. Como controle o inóculo bacteriano permaneceu em contato com a solução salina fosfatada tamponada (PBS). Os testes foram realizados em duplicata.

4.6 Atividade inibitória em biofilme

4.6.1 Formação do biofilme microbiano

Foi utilizada metodologia empregada por Lopes⁵⁹ (2003). A partir de uma cultura de 48 horas em ágar BHI, acrescido de 0,5% de extrato de levedura e 5% de sangue desfibrinado de cavalo (ágar sangue), um inóculo das duas cepas-teste de *F. nucleatum* e *S. mutans* foram repicadas, separadamente, para tubos contendo 5mL de caldo BHI suplementado com extrato de levedura (0,5%) e incubados em anaerobiose e microaerofilia, respectivamente, a 37°C, por 48 – 72 horas. A seguir, o inóculo foi centrifugado a 3000xg por três minutos, sendo o sobrenadante desprezado e o sedimentado lavado três vezes com PBS nas mesmas condições.

Assim, 10^5 céls. bact/mL de cada cepa teste, foi transferido para placas de microtitulação contendo 150µL de caldo BHI suplementado com 0,5% de extrato de levedura e 5% de sacarose e

incubados em anaerobiose a 37°C, por sete dias, com substituição diária do meio de cultura.

A composição final do biofilme microbiano foi avaliada por meio da remoção do mesmo das microplacas, com auxílio de espátula plástica descartável esterilizada, sua agitação em tubos contendo solução PBS e inoculação em placas de ágar sangue, as quais foram incubadas a 37°C, em anaerobiose e microaerofilia, por 72 e 48 horas, respectivamente.

4.6.2 Atividade inibitória dos extratos vegetais sobre os microrganismos em biofilme

Alíquotas de 200µL dos extratos testados (que apresentaram atividade inibitória no teste de difusão em ágar) foram adicionadas as microplacas e ali mantidas a 37°C, em anaerobiose, por até 24 horas. Após incubação por 5, 10, 20, 60 minutos, 2 e 24 horas, alíquotas de 0,1mL dessa mistura foram removidas e submetidas a diluições seriadas de PBS e inoculadas em placas de ágar sangue. As placas foram incubadas a 37°C, em anaerobiose, por 48 horas. Após, procedeu-se a leitura dos resultados por meio de contagem do número de colônias em contador de colônias (Fanen Co - USA). Como controle, o biofilme bacteriano permaneceu em contato com a solução salina fosfatada tamponada (PBS) nas condições descritas acima. Os testes foram realizados em duplicata.

4.7 Influência dos extratos vegetais sobre a aderência microbiana ao vidro

Foram utilizados *S. mutans* ATCC 35688 e ATCC 1910, mantidos em caldo BHI e repicados a cada 48 horas. Para a realização dos testes foram utilizados os extratos aquosos que apresentaram atividade inibitória no teste de difusão em ágar. Todos os diferentes extratos foram colocados em concentrações equivalentes a um quarto abaixo de suas máximas diluições inibitórias (MDI), ou seja, em concentrações subinibitórias, em tubos contendo meio de cultura desidratado (caldo BHI acrescido de 10% de sacarose), possuindo um volume total de 9mL. Foi utilizado um grupo controle (caldo BHI acrescido de 10% de sacarose e água deionizada). A seguir, bengalas de vidro de tamanho padronizado (20mm) foram inseridas em cada um dos tubos, os quais foram esterilizados em autoclave (121°C/15min).

Para a verificação da aderência bacteriana ao vidro utilizou-se metodologia empregada por Otake et al.⁸¹ (1991) com modificações. As células de *S. mutans* ATCC 35688 e ATCC 1910 foram lavadas por centrifugação a 3000xg, por 5 minutos, em PBS e ressuspendidas no mesmo tampão até a obtenção de 10⁶ UFC, determinada em escala de McFarland. A seguir, 10⁵ UFC foram transferidas para cada tubo experimental.

Depois de agitação e incubação por 90 minutos a 37°C, as bengalas foram lavadas em solução tampão fosfato (PBS) e transferidas para tubos contendo o mesmo tampão. Bactérias que adsorveram as bengalas foram dispersas utilizando-se agitador de tubos (Vortex), diluídas e transferidas para placas com meio de cultura BHI acrescido de 10% de sacarose. Após 48 horas de incubação a 37°C em microaerofilia, o número de UFC foi determinado. Os testes foram realizados em duplicata.

4.8 Influência dos extratos vegetais sobre a capacidade hemaglutinante

O teste foi realizado com metodologia descrita por Falkler Júnior & Hawley³⁰ (1977). Para tanto, foram utilizadas placas de microtitulação, as quais continham eritrócitos humanos lavados duas vezes a 1000xg, por 5 minutos, em PBS e ressuspensos nessa mesma solução até alcançar a concentração de 2%.

As cepas de referência de *Fusobacterium nucleatum* foram cultivadas em ágar sangue suplementado com extrato de levedura e acrescido dos extratos vegetais que mostraram atividade inibitória, de forma que a concentração dos mesmos no meio de cultura fosse 4 vezes menor que a concentração inibitória (ou o equivalente a 4 vezes a diluição máxima inibitória).

As células de *F. nucleatum* ATCC 10953 e ATCC 25586 foram preparadas através da centrifugação a 3000xg, por 5 minutos, em PBS, sendo realizadas três lavagens sucessivas para posterior ressuspensão, em PBS, na concentração de 10⁸UFC/mL.

Inicialmente, adicionaram-se 50µL da suspensão bacteriana às microplacas, realizando-se, a seguir, diluições, em base dois. Em seguida, foram adicionados 50µL da suspensão de eritrócitos. Posteriormente, as microplacas foram delicadamente agitadas, por um minuto, e mantidas a 37°C, por 30 minutos, seguidas de incubação por duas horas em temperatura ambiente, para a leitura final dos resultados.

O título de hemaglutinação foi definido como o recíproco da maior diluição bacteriana apresentando hemaglutinação. Os testes foram realizados em duplicata. Considerou-se que ocorreu inibição da hemaglutinação quando o título de hemaglutinação dos microrganismos cultivados nas concentrações subinibitórias dos extratos vegetais foi igual

ou inferior a 1/4 daquele observado com os microrganismos cultivados nas condições controle, sem a presença dos extratos vegetais.

5 RESULTADOS

Para a maioria dos extratos vegetais testados, observou-se alguma correlação entre a atividade antimicrobiana da preparação hidroalcoólica (Quadro 2) e aquosa (Quadro 3), principalmente frente aos estreptococos testados. O Quadro 2 evidencia o resultado da triagem inicial envolvendo os extratos hidroalcoólicos, sendo que, os extratos da folha de araçá (*Psidium cattleianum*), folha de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*), caule de cancerosa (*Maytenus ilicifolia*), casca do caule de candeia (*Piptocarpa rotundifolia*), folha da guajuvira (*Patagonula americana*), casca do caule de jacarandá (*Platypodium elegans*) e folha da caroba (*Jacaranda cuspidifolia*) apresentaram atividade inibitória frente a todos os microrganismos testados. O extrato de folha da figueira (*Ficus enormis*) apresentou atividade sobre todos os microrganismos testados, exceto *F. nucleatum* ATCC 10953, e o extrato de casca de louro-de-mato-grosso (*Cordia glabrata*) apresentou atividade antimicrobiana apenas sobre as cepas de *S. mutans*.

O Quadro 3 apresenta os resultados da triagem inicial envolvendo os extratos aquosos, sendo que os resultados mostraram-se semelhantes aos apresentados no Quadro 2. No entanto, o extrato de caule de cancerosa (*M. ilicifolia*), casca do caule de candeia (*P. rotundifolia*), casca do caule de jacarandá (*P. elegans*) e folha de caroba (*J. cuspidifolia*) não apresentaram atividade antimicrobiana sobre *F. nucleatum* ATCC 10953, o que difere dos resultados apresentados para os extratos hidroalcoólicos. O extrato aquoso de caule de cancerosa (*M. ilicifolia*), folha da figueira (*F. enormis*), folha de guajuvira (*P. americana*) e folha de caroba (*J. cuspidifolia*) não demonstraram atividade antimicrobiana frente ao *F. nucleatum* ATCC 25556, diferentemente do resultado apresentado por seus extratos hidroalcoólicos.

Com relação à Máxima Diluição Inibitória (MDI), apresentada no Quadro 4 para os extratos hidroalcoólicos e Quadro 5 para os extratos aquosos, observamos que as diluições inibitórias variaram de 50% (1/2) a 0,78% (1/128) da concentração inicial, sendo que as maiores diluições foram observadas para o extrato da folha de araçá (*P. cattleianum*), tanto na forma hidroalcoólica quanto aquosa, e as menores para a casca de louro-de-mato-grosso (*C. glabrata*) em ambas as formas de apresentação. O extrato hidroalcoólico da folha da figueira (*F. enormis*), não apresentou atividade inibitória para *F. nucleatum* ATCC 10953, os extratos aquosos do caule de cancerosa (*M. ilicifolia*), casca do caule de candeia (*P. rotundifolia*), folha da figueira (*F. enormis*), casca do caule de jacarandá (*P. elegans*), folha de caroba (*J. cuspidifolia*), e casca do caule de louro-de-mato-grosso (*C. glabrata*), não apresentaram atividade contra *F. nucleatum* ATCC 10953, sendo que desses extratos apenas os extratos de casca do caule de candeia (*P. rotundifolia*) e casca do caule de jacarandá (*P. elegans*) apresentaram atividade contra *F. nucleatum* ATCC 25556.

No Quadro 6 e Quadro 7 pode-se observar que o tempo necessário para eliminar 90% do inóculo dos microrganismos testados (*S. mutans* ATCC 1910 e ATCC 35688), tanto para os extratos hidroalcoólicos (Quadro 6) quanto extratos aquosos (Quadro 7) foram similares, o mínimo de 5 minutos, e o tempo máximo de 1440 minutos (24 horas). Para a redução de 90% do inóculo de *F. nucleatum* ATCC 10953 e ATCC 25586, Quadros 8 e 9 (extratos hidroalcoólicos), respectivamente e Quadros 10 e 11 (extratos aquosos), respectivamente, observa-se que o tempo mínimo foi 10 minutos e o máximo 1440 minutos.

A maioria dos extratos hidroalcoólicos e aquosos foram capazes de inibir o crescimento microbiano em biofilme (Quadro 12 e Quadro 13, respectivamente). No entanto, o período de tempo necessário para a inibição do biofilme mostrou-se superior aos observados para os microrganismos no estado planctônico, sendo que para alguns extratos

não foi observada atividade inibitória significativa, particularmente quando se empregaram os extratos aquosos.

Verificando-se a influência dos extratos aquosos em concentrações subinibitórias sobre a capacidade de adesão das cepas de *S. mutans* ATCC 1910 (Tabela 1) e ATCC 35688 (Tabela 2) observa-se que a maioria dos extratos foi capaz de inibir a adesão microbiana de forma significativa. Apenas o extrato aquoso de folha de candeia (*P. rotundifolia*) não foi capaz de inibir a adesão de *S. mutans* ATCC 1910 ao vidro de forma estatisticamente significativa. Os extratos aquosos de caule de cancerosa (*M. ilicifolius*) e folha de figueira (*F. enormis*) não inibiram de forma significativa a adesão de *S. mutans* ATCC 35688.

Os resultados da inibição de hemaglutinação apresentados no Quadro 14 para extratos para os extratos aquosos, demonstram que a maioria dos extratos não apresentou capacidade hemaglutinante, sendo os únicos extratos aquosos vegetais capazes de apresentar hemaglutinação o caule de cancerosa (*M. ilicifolius*), casca de candeia (*P. rotundifolia*) e folha de figueira (*F. enormis*). No entanto o único extrato que promoveu hemaglutinação em diluição superior ao apresentado no grupo controle foi o extrato de folha de figueira (*F. enormis*) frente a *F. nucleatum* ATCC 25586. A maioria dos extratos testados provocou intensa hemólise (Anexo D).

Quadro 2 - Triagem inicial da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais hidroalcoólicos (continua)

| Extrato vegetal | F. n. ATCC 10953 | F. n. ATCC 25556 | S. m. ATCC 35688 | S. m. ATCC 1910 |
|---|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Casca de angico (<i>A. falcata</i>) | - | - | - | - |
| Folha de angico (<i>A. falcata</i>) | - | - | - | - |
| Casca de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | - | - | - | - |
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | + | + | + | + |
| Caule de arnica (<i>S. chilensis</i>) | - | - | - | - |
| Casca de aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | - | - | - | - |
| Folha de aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | + | + | + | + |
| Casca do caju (<i>A. occidentale</i>) | - | - | - | - |
| Folha do cajuaçu (<i>A. giganteum</i>) | - | - | - | - |
| Caule de cancerosa (<i>M. ilicifolia</i>) | + | + | + | + |
| Casca da candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | + | + | + | + |
| Folha da candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | - | - | - | - |
| Casca do capitão-do-campo (<i>T. argentea</i>) | - | - | - | - |
| Casca de cedro (<i>C. fissilis</i>) | - | - | - | - |
| Folha de cedro (<i>C. fissilis</i>) | - | - | - | - |
| Casca da figueira (<i>F. enormis</i>) | - | - | - | - |
| Folha da figueira (<i>F. enormis</i>) | - | + | + | + |
| Folha da carne-de-vaca (<i>R. brasiliensis</i>) | - | - | - | - |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | + | + | + | + |
| Casca do ipê roxo (<i>T. impetiginosa</i>) | - | - | - | - |
| Folha do ipê roxo (<i>T. impetiginosa</i>) | - | - | - | - |
| Casca do ipê amarelo (<i>T. ochracea</i>) | - | - | - | - |
| Folha do ipê amarelo (<i>T. ochracea</i>) | - | - | - | - |
| Casca do ipê branco (<i>T. roseo-alba</i>) | - | - | - | - |
| Folha do ipê branco (<i>T. roseo-alba</i>) | - | - | - | - |

Quadro 2 - Triagem inicial da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais hidroalcoólicos (conclusão)

| Extrato vegetal | F. n. ATCC 10953 | F. n. ATCC 25556 | S. m. ATCC 35688 | S. m. ATCC 1910 |
|--|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | + | + | + | + |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | + | + | + | + |
| Folha de pau d'alho (<i>G. integrifolia</i>) | - | - | - | - |
| Folha de pequi (<i>C. brasiliense</i>) | - | - | - | - |
| Casca de pequi (<i>C. brasiliense</i>) | - | - | - | - |
| Casca de louro-de-mato-grosso (<i>C. glabrata</i>) | - | - | + | + |
| Folha de louro-de-mato-grosso (<i>C. glabrata</i>) | - | - | - | - |
| Casca de balsaminho (<i>D. aurantiaca</i>) | - | - | - | - |
| Folha de balsaminho (<i>D. aurantiaca</i>) | - | - | - | - |

F. n. (*Fusobacterium nucleatum*)

S. m. (*Streptococcus mutans*)

Quadro 3 - Triagem inicial da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais aquosos (continua)

| Extrato vegetal | F. n. ATCC 10953 | F. n. ATCC 25556 | S. m. ATCC 35688 | S. m. ATCC 1910 |
|---|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Casca de angico (<i>A. falcata</i>) | - | - | - | - |
| Folha de angico (<i>A. falcata</i>) | - | - | - | - |
| Casca de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | - | - | - | - |
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | + | + | + | + |
| Caule de arnica (<i>S. chilensis</i>) | - | - | - | - |
| Casca de aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | - | - | - | - |
| Folha de aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | + | + | + | + |
| Casca do caju (<i>A. occidentale</i>) | - | - | - | - |
| Folha do cajuaçu (<i>A. giganteum</i>) | - | - | - | - |
| Caule de cancerosa (<i>M. ilicifolia</i>) | - | - | + | + |
| Casca da candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | - | + | + | + |
| Folha da candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | - | - | - | - |
| Casca do capitão-do-campo (<i>T. argentea</i>) | - | - | - | - |
| Casca de cedro (<i>C. fissilis</i>) | - | - | - | - |
| Folha de cedro (<i>C. fissilis</i>) | - | - | - | - |
| Casca da figueira (<i>F. enormis</i>) | - | - | - | - |
| Folha da figueira (<i>F. enormis</i>) | - | - | + | + |
| Folha da carne-de-vaca (<i>R. brasiliensis</i>) | - | - | - | - |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | + | - | + | + |
| Casca do ipê roxo (<i>T. impetiginosa</i>) | - | - | - | - |
| Folha do ipê roxo (<i>T. impetiginosa</i>) | - | - | - | - |
| Casca do ipê amarelo (<i>T. ochracea</i>) | - | - | - | - |
| Folha do ipê amarelo (<i>T. ochracea</i>) | - | - | - | - |
| Casca do ipê branco (<i>T. roseo-alba</i>) | - | - | - | - |
| Folha do ipê branco (<i>T. roseo-alba</i>) | - | - | - | - |

Quadro 3 - Triagem inicial da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais aquosos (conclusão)

| Extrato vegetal | F. n. ATCC 10953 | F. n. ATCC 25556 | S. m. ATCC 35688 | S. m. ATCC 1910 |
|--|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | - | + | + | + |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | - | - | + | + |
| Folha de pau d'alho (<i>G. integrifolia</i>) | - | - | - | - |
| Folha de pequi (<i>C. brasiliense</i>) | - | - | - | - |
| Casca de pequi (<i>C. brasiliense</i>) | - | - | - | - |
| Casca de louro-de-mato-grosso (<i>C. glabrata</i>) | - | - | + | + |
| Folha de louro-de-mato-grosso (<i>C. glabrata</i>) | - | - | - | - |
| Casca de balsaminho (<i>D. aurantiaca</i>) | - | - | - | - |
| Folha de balsaminho (<i>D. aurantiaca</i>) | - | - | - | - |

F. n. (*Fusobacterium nucleatum*)

S. m. (*Streptococcus mutans*)

Quadro 4 – Máxima diluição inibitória (MDI) dos extratos vegetais hidroalcoólicos

| Extrato vegetal | F. n. ATCC 10953 | F. n. ATCC 25556 | S. m. ATCC 35688 | S. m. ATCC 1910 |
|--|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | 1/64 | 1/128 | 1/64 | 1/64 |
| Folha de aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | 1/32 | 1/32 | 1/64 | 1/64 |
| Caule de cancerosa (<i>M. ilicifolius</i>) | 1/8 | 1/8 | 1/4 | 1/4 |
| Casca da candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | 1/8 | 1/8 | 1/4 | 1/4 |
| Folha da figueira (<i>F. enormis</i>) | —^a | 1/2 | 1/4 | 1/4 |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | 1/16 | 1/32 | 1/32 | 1/32 |
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | 1/16 | 1/16 | 1/32 | 1/32 |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | 1/4 | 1/2 | 1/4 | 1/4 |
| Casca de louro-de-mato-grosso (<i>C. glabrata</i>) | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |

F. n. (*Fusobacterium nucleatum*)

S. m. (*Streptococcus mutans*)

—^a Extrato que não conseguiu inibir o biofilme significativamente

Quadro 5 – Máxima diluição inibitória (MDI) dos extratos vegetais aquosos

| Extrato vegetal | F. n. ATCC 10953 | F. n. ATCC 25556 | S. m. ATCC 35688 | S. m. ATCC 1910 |
|---|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | 1/64 | 1/64 | 1/64 | 1/64 |
| Folha de aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | 1/32 | 1/32 | 1/64 | 1/64 |
| Caule de cancerosa (<i>M. ilicifolius</i>) | __a | __a | 1/4 | 1/4 |
| Casca da candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | __a | 1/4 | 1/4 | 1/4 |
| Folha da figueira (<i>F. enormis</i>) | __a | __a | 1/4 | 1/4 |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | 1/8 | __a | 1/32 | 1/32 |
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | __a | 1/4 | 1/32 | 1/32 |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | __a | __a | 1/4 | 1/4 |
| Casca de louro-de-mato-grosso (<i>C. glabrata</i>) | __a | __a | 1/2 | 1/2 |

F. n. (*Fusobacterium nucleatum*)

S. m. (*Streptococcus mutans*)

—^a Extrato que não conseguiu inibir o biofilme significativamente

Quadro 6 - Tempo necessário para eliminar o inóculo em contato com os extratos vegetais hidroalcoólicos para *S. mutans* ATCC 35688 e ATCC 1910

| Extrato | Tempo (minutos) |
|--|-----------------|
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | 10 |
| Folha da aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | 20 |
| Caule de cancerosa (<i>M. ilicifolius</i>) | 120 |
| Casca de candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | 120 |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | 10 |
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | 5 |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | 1440 |
| Casca de louro-de-mato-grosso (<i>C. glabrata</i>) | 120 |

Quadro 7 - Tempo necessário para eliminar o inóculo em contato com os extratos vegetais aquosos para *S. mutans* ATCC 35688 e ATCC 1910

| Extrato | Tempo (minutos) |
|--|-----------------|
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | 10 |
| Folha da aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | 20 |
| Caule de cancerosa (<i>M. ilicifolius</i>) | 120 |
| Casca de candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | 120 |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | 10 |
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | 5 |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | 1440 |
| Casca de louro-de-mato-grosso (<i>C. glabrata</i>) | 120 |

Quadro 8 - Tempo necessário para eliminar o inóculo em contato com os extratos vegetais hidroalcoólicos para *F. nucleatum* ATCC 10953

| Extrato | Tempo (minutos) |
|--|-----------------|
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | 10 |
| Folha da aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | 10 |
| Caula de cancerosa (<i>M. ilicifolius</i>) | 120 |
| Casca de candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | 120 |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | 20 |
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | 60 |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | 1440 |

Quadro 9 - Tempo necessário para eliminar o inóculo em contato com os extratos vegetais aquosos para *F. nucleatum* ATCC 10953

| Extrato | Tempo (minutos) |
|--|-----------------|
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | 10 |
| Folha da aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | 10 |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | 20 |

Quadro 10 - Tempo necessário para eliminar o inóculo em contato com os extratos vegetais hidroalcoólicos para *F. nucleatum* ATCC 25586

| Extrato | Tempo (minutos) |
|--|-----------------|
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | 10 |
| Folha da aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | 10 |
| Caulo de cancerosa (<i>M. ilicifolius</i>) | 120 |
| Casca de candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | 120 |
| Folha da figueira (<i>F. enormis</i>) | 1440 |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | 60 |
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | 120 |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | 1440 |

Quadro 11 - Tempo necessário para eliminar o inóculo em contato com os extratos vegetais aquosos para *F. nucleatum* ATCC 25586

| Extrato | Tempo (minutos) |
|---|-----------------|
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | 10 |
| Folha da aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | 10 |
| Casca de candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | 120 |
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | 120 |

Quadro 12 - Atividade inibitória de extratos vegetais hidroalcoólicos sobre biofilmes microbianos

| Extrato | Tempo necessário para eliminar 90% dos microrganismos (em minutos) |
|--|--|
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | 60 |
| Folha da aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | 120 |
| Caula de cancerosa (<i>M. ilicifolius</i>) | 1440 |
| Casca de candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | 1440 |
| Folha de figueira (<i>F. enormis</i>) | — ^a |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | 120 |
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | 120 |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | 1440 |
| Casca de louro-de-mato-grosso (<i>C. glabrata</i>) | 1440 |

—^a Extrato que não conseguiu inibir o biofilme significativamente

Quadro 13 - Atividade inibitória de extratos vegetais aquosos sobre biofilmes microbianos

| Extrato | Tempo necessário para eliminar 90% dos microrganismos (em minutos) |
|--|--|
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | 60 |
| Folha da aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | 120 |
| Caulo de cancerosa (<i>M. ilicifolius</i>) | 1440 |
| Casca de candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | 1440 |
| Folha de figueira (<i>F. enormis</i>) | — ^a |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | 120 |
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | 120 |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | — ^a |
| Casca de louro-de-mato-grosso (<i>C. glabrata</i>) | — ^a |

—^a Extrato que não conseguiu inibir o biofilme significativamente

Quadro 14 - Títulos de hemaglutinação de *F. nucleatum* ATCC 10953 e ATCC 25586 na presença de diferentes extratos vegetais em concentrações subinibitórias

| microrganismo | Título de hemaglutinação | | | | | | | | |
|---------------|--------------------------|----------------|----------------|----|----|-----|----------------|----------------|----------------|
| | extrato vegetal | | | | | | | | |
| | *cont. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 10953 | 128 | ^a X | ^a X | 16 | 32 | 128 | ^a X | ^a X | ^a X |
| 25586 | 64 | ^a X | ^a X | 16 | 16 | 128 | ^a X | ^a X | ^a X |

*Cont. (controle)

1 Folha de araçá (*P. cattleianum*)

2 Folha da aroeira (*M. urundeuva*)

3 Caule de cancerosa (*M. ilicifolius*)

4 Casca de candeia (*P. rotundifolia*)

5 Folha de figueira (*F. enormis*)

6 folha de guajuvira (*P. americana*)

7 casca de jacarandá (*P. elegans*)

8 folha de caroba (*J. cuspidifolia*)

^aX extratos que induzem precipitação das hemácias.

Tabela 1 - Influência de extratos vegetais aquosos em concentrações subinibitórias sobre a capacidade de adesão ao vidro de *S. mutans* ATCC 1910.

| Extrato | Controle | Teste | P |
|--|----------------------|----------------------|-----------|
| Folha do araçá (<i>P. cattleianum</i>) | 203.10 ⁵ | 66.10 ⁴ | 0,0000001 |
| Folha da aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | 203.10 ⁵ | 198.10 ⁴ | 0,0000001 |
| Caule de cancerosa (<i>M. ilicifolius</i>) | 203.10 ⁵ | 123.10 ⁵ | 0,0150 |
| Casca de candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | 203.10 ⁵ | 209.10 ⁵ | 0,06890* |
| Folha de figueira (<i>F. enormis</i>) | 203.10 ⁵ | 96.10 ⁵ | 0,0045 |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | 203.10 ⁵ | 55.10 ⁴ | 0,0000001 |
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | 203.10 ⁵ | 36.10 ⁵ | 0,0000001 |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | 203.10 ⁵⁵ | 108.10 ⁵ | 0,0002 |
| Casca de louro-de-mato-grosso (<i>C. glabrata</i>) | 203.10 ⁵ | 174. 10 ⁴ | 0,0000001 |

*Sem significância estatística

Tabela 2 - Influência de extratos vegetais aquosos em concentrações subinibitórias sobre a capacidade de adesão ao vidro de *S. mutans* 35688.

| Extrato | Controle | Teste | P |
|--|---------------------|---------------------|-----------|
| Folha do araçá (<i>P. cattleianum</i>) | 279.10 ⁵ | 178.10 ⁵ | 0,01120 |
| Folha da aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | 279.10 ⁵ | 114.10 ⁴ | 0,0000001 |
| Caule de cancerosa (<i>M. ilicifolius</i>) | 279.10 ⁵ | 143.10 ⁵ | 0,0525* |
| Casca de candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | 279.10 ⁵ | 1310 ⁴ | 0,0000001 |
| Folha de figueira (<i>F. enormis</i>) | 279.10 ⁵ | 206.10 ⁵ | 0,20960* |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | 279.10 ⁵ | 68.10 ⁵ | 0,0000001 |
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | 279.10 ⁵ | 125.10 ⁵ | 0,0005 |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | 279.10 ⁵ | 119.10 ⁵ | 0,0001 |
| Casca de louro-de-mato-grosso (<i>C. glabrata</i>) | 279.10 ⁵ | 91. 10 ⁴ | 0,00001 |

*Sem significância estatística

6 DISCUSSÃO

As doenças infecciosas da cavidade bucal são decorrentes, em sua maioria, da perda do equilíbrio entre a microbiota autóctone e o hospedeiro (SUNDQVIST & JOHANSSON¹⁰⁷, 1982; SLOTS & GENCO¹⁰², 1984; XIE et al.¹¹⁸, 1991). Nesse sentido, o controle do biofilme microbiano bucal se mostra indispensável para a manutenção do equilíbrio entre o mesmo e os tecidos do hospedeiro, que com ele continuamente interagem através de componentes microbianos, metabólitos, mecanismos do sistema imunológicos, salivares ou teciduais.

Dos processos patológicos que acometem a cavidade bucal, merecem destaque as periodontopatias e a cárie dental, em função de suas elevadas prevalências e danos causados ao aparelho estomatognático (DAROUT et al.²¹, 2002).

O processo carioso tem sido intensamente estudado e descrito, merecendo destaque a participação de espécies de estreptococos na sua etiopatogênese (GIBBONS & NYGAARD³⁷, 1968; WU-YUAN et al.¹¹⁷, 1988). A redução na participação desses microrganismos na formação e composição do biofilme e de seus fatores de virulência, associados ao controle de sua acidogenicidade, aciduridade e capacidade de adesão às estruturas mineralizadas, pode levar ao controle da doença cárie (CIARDI et al.¹⁴, 1981).

As periodontopatias são o resultado do desequilíbrio entre alguns fatores de virulência de espécies bacterianas que colonizam a bolsa periodontal e a resistência imunológica do hospedeiro (SUNDQVIST & JOHANSSON¹⁰⁷, 1982; SLOTS & GENCO¹⁰², 1984; XIE et al.¹¹⁸, 1991). Dentre os microrganismos periodontopatogênicos, merece destaque *Fusobacterium nucleatum* devido sua capacidade de aderir a eritrócitos

(FALKLER JUNIOR et al.²⁹, 1983; TANNER et al.¹⁰⁹, 1998), linfócitos, neutrófilos, fibroblastos, células HeLa (OZAKI et al.⁸², 1990), células epiteliais bucais, hidroxiapatita revestida por saliva ou estaterina e colágeno tipo IV, além de produzir compostos tóxicos como sulfeto de hidrogênio e uma potente endotoxina (SVEEN & SKAUG¹⁰⁸, 1980).

De acordo com Kolenbrander & London⁵¹ (1993), esse anaeróbio Gram-negativo atuaria como ponte entre colonizadores iniciais do biofilme bacteriano dentário, representados basicamente por microrganismos de gênero *Streptococcus*, e os colonizadores finais, criando condições ambientais favoráveis para a implantação de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e espécies do gênero *Selenomonas* entre outras, possuindo, então, grande importância no estabelecimento de um biofilme bacteriano subgingival com potencial periodontopatogênico.

Com a finalidade de prevenção e controle de periodontopatias e cárie dentária, o emprego adjunto de agentes químicos que interferem na instalação dos microrganismos diretamente relacionados com essas doenças, ou mesmo na sua eliminação, vem ganhando popularidade, principalmente em pacientes que apresentam dificuldades de realizar a remoção mecânica do biofilme, a exemplo das crianças e dos pacientes portadores de deficiências físicas e mentais, além dos indivíduos cuja doença periodontal ou cárie mostra-se de progressão mais rápida.

Nesse sentido, deve-se salientar, ainda, que a maioria dos colutórios e antimicrobianos disponíveis no mercado e utilizados para o combate de doenças que acometem a cavidade bucal possuem desvantagens sérias quando utilizados por longos períodos de tempo, como manchamento dos dentes, perda de paladar, ardor e sensação de queimação (GROPPO et al.⁴⁰, 2002). Desta forma, a avaliação da atividade antimicrobiana e antiaderente de extratos naturais merece ser estudada, uma vez que muitos desses compostos são largamente utilizados na medicina popular. Além disso, nosso país apresenta rica

biodiversidade, devendo-se considerar também o menor custo destas formas terapêuticas em relação a medicamentos industrializados (REHDER et al.⁹⁰, 2004).

É comum o pensamento de que plantas medicinais de uso tradicional já foram testadas e homologadas pelo uso prolongado em populações humanas, sendo considerados eficazes e que não apresentam efeitos colaterais, não necessitando, portanto, de avaliação laboratorial (VOLPATO et al.¹¹⁵, 2002). Além desse aspecto é notável o interesse no desenvolvimento de alternativas para o controle químico do biofilme microbiano e seus impactos na ecologia microbiana bucal.

No presente estudo, optou-se por estudar extratos de plantas do cerrado em função da importância desse bioma no panorama da exploração comercial do solo no Brasil, bem como pela significativa riqueza botânica, que agrega espécies oriundas da floresta ombrófila densa litorânea (mata atlântica) e em menor extensão, da floresta ombrófila densa equatorial (floresta amazônica). As consequências do desconhecimento de sua riqueza se agravam quando se verifica que cerca de 40% do bioma já tenha sido devastado e afirmam que o cerrado possui somente 1,5% de sua extensão protegida por lei, e atualmente é o bioma em maior risco no país, sendo que menos de 1% do potencial farmacológico dessas plantas foi avaliado (FELFINI & FELFINI³³ 2001).

Foram utilizadas 22 espécies vegetais encontradas no cerrado brasileiro e utilizadas na medicina popular, como evidenciado por Vieira & Martins¹¹³ (2000), sendo preparados extratos hidroalcoólicos e aquosos desses vegetais. As áreas escolhidas para a coleta dos espécimes de vegetais são representativas dos principais tipos de vegetação de cerrado, sendo que se optou pela inclusão de áreas não submetidas a agressões humanas e que pudessem representar a vegetação que cobria originalmente grande parte do Brasil central. Coletaram-se amostras na região de Pedra Caída e Grajaú no município de Carolina (Estado do Maranhão), bem como no município de Camapuã

(Estado do Mato Grosso do Sul) durante o período chuvoso, nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro, dos anos de 2002 e 2003.

No presente estudo, os vegetais foram submetidos à secagem inicial em temperatura ambiente e posteriormente em estufa a 37°C, sendo a metodologia descrita por Navarro et al.⁷⁶ (1998) e Tsuchiya et al.¹¹¹ (1994), uma vez que o órgão vegetal seja ele folha, raiz ou casca, quando recém-colhido apresenta elevada umidade, o que concorre para que a degradação enzimática seja aumentada, além da proliferação de microrganismos. Esta ação compreende oxidações, reduções, rearranjos moleculares, hidrólises e remoção ou adição de radicais, que implicam alterações dos princípios ativos. A redução do teor de umidade também faz com que a atividade enzimática seja diminuída, prevenindo a perda de qualidade das plantas (MARTINS et al.⁶⁷, 2000).

Silva et al.¹⁰⁰ (2003) observaram em estudo sobre a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de uma espécie vegetal (*Malaleuca alternifolia*) que o material de plantas medicinais não necessita processamento imediato após a colheita, sendo importante o processo de secagem, uma vez que a mesma reduz a ação de enzimas pela desidratação e de microrganismos alteradores e/ou patogênicos, permitindo sua maior conservação e concentração de princípios ativos.

Mesmo após a escolha da planta medicinal a ser coletada, deve-se observar que o vegetal oferece algumas dificuldades na uniformidade e estabilidade do produto a ser utilizado. Exemplares de uma mesma espécie, colhidos em épocas diferentes, não possuem necessariamente a mesma atividade biológica, tornando-se difícil seu controle químico, em virtude do grande número de substâncias presentes (VOLPATO et al.¹¹⁵, 2002), portanto no presente estudo foram retiradas folhas, caules e cascas de caule de um único exemplar de cada espécie e a coleta foi realizada de uma única vez, sendo a quantidade suficiente para a produção dos extratos utilizados em todos os testes.

Para a obtenção das amostras de plantas foram utilizados os moradores de cada região, já acostumados com a coleta dos

espécimes estudados. A contribuição dos moradores locais no manejo e obtenção de plantas medicinais é essencial, uma vez que os mesmos apresentam habilidade em localizar, identificar, extrair e manipular os recursos locais utilizados na elaboração de remédios caseiros há gerações (RODRIGUES⁹², 1998).

Dos 33 extratos hidroalcoólicos testados, oriundos de vinte e duas espécies de plantas típicas do cerrado, nove evidenciaram atividade inibitória sobre todos, ou, pelos menos, metade das amostras microbianas testadas, representando um percentual elevado em comparação com trabalhos realizados com plantas medicinais na Argentina, onde 12 espécies vegetais apresentaram alguma atividade antimicrobiana em um total de 122 espécies estudadas (ANESINI & PERES⁵, 1993). Outros estudos, como o de Lopez et al.⁶¹ (2001) demonstraram um percentual maior de plantas com atividade em relação ao número de espécies estudadas, no entanto, nenhuma das 24 plantas estudadas apresentou atividade contra bactérias Gram-negativas, diferentemente do presente estudo onde oito dos nove extratos que apresentaram atividade antimicrobiana foram capazes de inibir o crescimento de *F. nucleatum*, um bastonete anaeróbio e Gram-negativo.

As preparações hidroalcoólicas e aquosas mostraram atividade antimicrobiana semelhante em todas as modalidades de testes realizados, particularmente sobre os estreptococos, o que indica que o(s) princípio(s) ativo(s) pode(m) ser extraídos por métodos simples, empregando-se água como líquido extrator sem muito prejuízo para a atividade antimicrobiana. Esses resultados estão de acordo com Paz et al.⁸⁵ (1995) que realizaram um levantamento da atividade antimicrobiana de extratos de plantas medicinais do Uruguai, utilizando extratos alcoólicos e aquosos, não verificando diferenças estatísticas entre os resultados apresentados pelos dois extratos.

O Quadro 2 evidencia os resultados da triagem inicial envolvendo os extratos hidroalcoólicos testados, sendo que, apenas os extratos da folha de araçá (*Psidium cattleianum*), folha de aroeira

(*Myracrodruon urundeuva*), caule de cancerosa (*Maytenus ilicifolia*), casca de candeia (*P. rotundifolia*), folha da guajuvira (*Patagonula americana*), casca de jacarandá (*Platypodium elegans*) e folha da caroba (*Jacarandá cuspidifolia*) tiveram atividade inibitória frente a todos os microrganismos testados. O extrato de folha da figueira (*Ficus enormis*) apresentou atividade sobre todos os microrganismos testados, exceto *F. nucleatum* ATCC 10953, e o extrato de casca de louro-de-mato-grosso (*Cordia glabrata*) apresentou atividade antimicrobiana apenas sobre as cepas de *S. mutans*.

O Quadro 3 apresenta os resultados da triagem inicial envolvendo os extratos aquosos testados, sendo que, os resultados apresentam-se semelhantes aos apresentados no Quadro 2, no entanto, o extrato de caule de cancerosa (*M. ilicifolia*), casca do caule de candeia (*P. rotundifolia*), casca do caule de jacarandá (*P. elegans*) e folha de caroba (*J. cuspidifolia*) não apresentaram atividade antimicrobiana sobre *F. nucleatum* ATCC 10953, o que difere dos resultados apresentados para os extratos hidroalcoólicos. O extrato aquoso de caule de cancerosa (*M. ilicifolia*), folha da figueira (*F. enormis*), folha de guajuvira (*P. americana*) e folha de caroba (*J. cuspidifolia*) não apresentaram atividade antimicrobiana contra *F. nucleatum* ATCC 25556, diferentemente dos resultados apresentados por seus extratos hidroalcoólicos.

Com relação à MDI dos extratos vegetais hidroalcoólicos (Quadro 4) e aquosos (Quadro 3) observa-se que a maioria dos extratos hidroalcoólicos foi capaz de eliminar os microrganismos em concentrações mais baixas, como por exemplo, o extrato da folha de araçá (*P. cattleianum*), que foi capaz de eliminar *F. nucleatum* ATCC 25556 em concentração equivalente a 1/128 da concentração inicial utilizada, no entanto os extratos aquosos não foram capazes de produzir resultados semelhantes, sendo que a maioria inibiu o crescimento microbiano em concentrações superiores. Deve-se ressaltar que a menor quantidade de extratos vegetais aquosos capazes de inibir o crescimento de *F. nucleatum* ocorreu devido esses mesmos extratos não

terem apresentado atividade contra o microrganismo nos testes iniciais, o que serviu como contraprova dos resultados obtidos e apresentados no Quadro 3.

Quando se comparam os resultados obtidos com os extratos sobre *S. mutans* e *F. nucleatum* (Quadros 4 e 5), verifica-se que houve necessidade de maiores concentrações dos mesmos para inibir o crescimento de *F. nucleatum* em relação a inibição do crescimento de *S. mutans*, o que está de acordo com os resultados de Ebersole et al.²⁵ (1997), que observaram que a eliminação de microrganismos anaeróbios e Gram-negativos apresenta-se dificultada pelo próprio metabolismo e características fisiológicas bacterianas quando em comparação com microrganismos aeróbios e Gram-positivos.

Até onde se puderam verificar, as plantas que apresentaram atividade antimicrobiana não são utilizadas para controle do biofilme microbiano bucal e mesmo para tratamento das infecções superficiais, embora possam ser encontradas referências ao seu uso como parte da medicina popular em outras áreas, como anti-inflamatórios, anti-reumáticos, anti-diarréicos e outros usos populares (ALVES et al.², 2000; OLIVEIRA et al.⁷⁹, 2003).

Em extensa revisão de literatura sobre o emprego popular dessas plantas, Vieira & Martins¹¹³ (2000) revelaram que a aroeira (*M. urundeuva*) teria propriedades cicatrizantes e analgésicas, a figueira (*F. enormis*) é utilizada contra infecções dos rins e como potente cicatrizante, a casca do caule de jacarandá (*P. elegans*) é considerada adequada para o tratamento de verminoses e dor de dentes, candeia (*P. rotundifolia*) teria atividade anti-esquistossomática, o caule de cancerosa (*M. ilicifolia*) teria indicação no tratamento de gastrite, úlceras e indigestão. A caroba (*J. cupidifolia*) teria atividade anti-sifilítica e anti-reumática. Com relação a casca de louro-do-mato-grosso (*C. glabrata*), folha de guajuvira (*P. americana*) e folha de araçá (*P. cattleianum*) não foi encontrado relatos na literatura sobre a utilização dessas plantas, apenas encontrou-se o relato dos moradores das regiões onde as plantas foram coletadas. Entretanto

nenhum estudo procurou verificar se, de fato, essas indicações populares correspondiam a uma realidade passível de avaliação laboratorial, tampouco qual princípio ativo poderia exercer os alegados efeitos terapêuticos.

Observou-se que os extratos que mostraram atividade antimicrobiana frente às cepas de referência testadas, *S. mutans* ATCC 35688 e ATCC 1910 (Quadros 6 e 7) e *F. nucleatum* ATCC 10953 (Quadros 8 e 9) e ATCC 25586 (Quadros 10 e 11) apresentaram atividade significativamente menor quando os microrganismos encontravam-se em biofilme (Quadros 12 e 13).

Diferentes fatores podem contribuir para o fenômeno, inicialmente, tem-se que a limitação de nutrientes observada no interior dos biofilmes condiciona uma redução da atividade metabólica desses microrganismos (SHU et al.⁹⁹, 2000), o que também reduziria a efetividade de drogas capazes de interferir com a atividade metabólica bacteriana (SPRATT et al.¹⁰⁴, 2001). A presença de numerosas espécies bacterianas diferentes no interior do biofilme, *in vivo*, também colaboraria para reduzir ainda mais a atividade dessas drogas, visto que um microrganismo resistente poderia pela exportação de enzimas ou outros compostos capazes de inativar os antimicrobianos, tornar os microrganismos vizinhos mais resistentes, sendo que as bases genéticas do fenômeno também podem ser transferidas de uma célula bacteriana para outra através de conjugação, transformação e transdução, como ocorre com os genes de resistência aos antibióticos e quimioterápicos com atividade antimicrobiana (SPRATT et al.¹⁰⁴, 2001). No biofilme criado no presente estudo, esse último mecanismo pode ser desconsiderado, visto que o biofilme possui composição microbiana definida e pobre, sendo que nenhum dos microrganismos utilizados possui capacidade de resistir aos produtos testados quando em estado planctônico, como evidenciado nos Quadros 6, 7, 8, 9, 10 e 11.

Além desses aspectos, merece destaque a menor penetração do princípio ativo no interior do biofilme, devido à existência

de uma densa matriz extracelular de polissacarídeos e proteínas envolvendo os microrganismos em proliferação (LI et al.⁵⁵, 2001). Como os estreptococos do grupo *mutans* estão entre os maiores produtores desses polissacarídeos extracelulares é de se conjecturar a importância desse fenômeno na maior resistência do estado de biofilme sobre a condição planctônico, como também observado comparando-se os Quadros 6 e 7 com os Quadros 12 e 13. Deve-se ressaltar, ainda, que a maior resistência dos microrganismos em biofilme quando submetidos aos extratos aquosos pode ter sido proporcionada pela maior resistência apresentada pelo *F. nucleatum* a esse tipo de extrato, uma vez que os resultados mostraram que o microrganismo foi inibido por um número menor de extratos aquosos (Quadro 3). Entretanto, para uma melhor caracterização do fenômeno, necessita-se de um maior conhecimento sobre quais compostos poderiam ter atividade inibitória sobre esses microrganismos bucais e quais estariam presentes nesses extratos e em que concentrações. Os resultados evidenciam que os extratos vegetais com atividade antimicrobiana mais evidente sobre os biofilmes também se revelaram como aqueles capazes de atuar nas maiores diluições sobre os microrganismos planctônicos (Quadros 4 e 5).

A literatura relata efeito inibitório do chá ou de outros extratos aquosos frente a *S. mutans* ou o efeito sobre a experiência de cárie da população (PAOLINO et al.⁸⁴, 1980; ELVIN-LEWIS et al.²⁷, 1980; KASHKET et al.⁴⁹, 1985). Segundo Paolino et al.⁸⁴ (1980), o ácido tânico presente em plantas inibe enzimas bacterianas como a aminocidase, β -galactosidase, glicose isomerase e dextrano-sucrase em *S. mutans*.

De acordo com Wu-Yuan et al.¹¹⁷ (1988), compostos fenólicos poderiam levar à precipitação de proteínas e inibir o crescimento bacteriano em concentrações similares às aquelas encontradas em bebidas.

Extratos vegetais também parecem capazes de inibir microrganismos não relacionados com os estreptococos, como periodontopatógenos Gram-negativos e leveduras do gênero *Candida* (GAETTI-JARDIM JÚNIOR, 2004, estudo em andamento, comunicação pessoal). Infelizmente, os princípios ativos ainda precisavam ser caracterizados.

Elvin-Lewis et al.²⁷ (1980) evidenciaram que a epigallocatequina, um dos compostos fenólicos presentes no chá, podia levar à perfuração de estruturas de membrana, o que explica a maior sensibilidade das bactérias Gram-negativas, como *F. nucleatum*. Esses compostos fenólicos (polifenóis, flavonóis, epicatequina, epigallocatequina) ainda são capazes de inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas, a enzima transcriptase reversa do vírus HIV, hemolisinas de *S. aureus* e de *Vibrio parahaemolyticus*.

O estudo dos efeitos desses princípios ativos sobre o metabolismo microbiano é dificultado até pela falta de um conhecimento mais profundo sobre a estrutura química e atividade biológica dos mesmos. Esse fato se mostra verdadeiro até para plantas como a *Camellia sinensis* e *Coffea arabica*, já bem estudados, e que fazem parte da dieta humana.

Na Tabela 1, verifica-se que a maioria dos extratos aquosos foi capaz de inibir a adesão de *S. mutans* ao vidro. A adesão de células bacterianas à superfície dos dentes é de fundamental importância para o início da lesão cáries. Segundo Gibbons & Nygaard³⁷ (1968), a aderência desse microrganismo à superfície dos dentes e subsequente formação do biofilme microbiano bucal ocorre em dois estágios. O primeiro estágio é a aderência reversível da célula bacteriana à película adquirida presente na superfície do esmalte e o segundo estágio é a acumulação de *S. mutans*, por meio da sua proliferação e produção de glucanos extracelulares. Estudos têm demonstrado a ação de uma série de produtos químicos, agentes biológicos e substâncias naturais antiplaca e anticárie na restrição *in vivo* da formação do biofilme e cárie, os quais

GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E. (Universidade Estadual Paulista – UNESP). Comunicação pessoal, 2004.

agem principalmente sobre a formação dos polissacarídeos extracelulares (STRALFORS¹⁰⁵, 1967; CURY¹⁸, 1981; OTAKE et al.⁸¹, 1991; DAGLIA et al.¹⁹, 1998).

O ácido tânico, encontrado em vários tipos de vegetais, é estudado como um importante inibidor de crescimento bacteriano e da ação da enzima glicosiltransferase (Stralfors¹⁰⁵, 1967; PAOLINO et al.⁸⁴, 1980; KASHKET et al.⁴⁹, 1985; OTAKE et al.⁸¹, 1991). Esse composto também se mostra capaz de formar um complexo estável com proteínas ricas em prolina presentes na saliva, as quais estão diretamente envolvidas com a adsorção de bactérias bucais à película adquirida. Essa capacidade de unir as proteínas pode interferir com os receptores da superfície celular dos microrganismos envolvidos na adesão bacteriana (OTAKE et al.⁸¹, 1991; SCALBERT⁹⁸, 1991).

Os dados das Tabelas 1 e 2 evidenciam que os padrões de adesão das duas cepas microbianas de referência testadas são semelhantes e sofreram influências similares dos extratos vegetais testados em diluições subinibitórias, que provavelmente permaneceriam por um tempo maior na cavidade bucal. Verificou-se que a adição dos extratos vegetais a suspensão de caseína e de gelatina levaram à precipitação do conteúdo protéico (resultados não apresentados), sugerindo que a inibição do processo de adesão, como evidenciado nas Tabelas 1 e 2, esteja relacionado não apenas com uma alteração na produção de polissacarídeos extracelulares, mas também, na estrutura das adesinas dessas bactérias. A modificação dessas adesinas poderia afetar a adesão microbiana por dificultar o reconhecimento entre essas proteínas bacterianas e aqueles receptores presentes na película adquirida, uma vez que esse processo apresenta notável especificidade.

Além da modificação das adesinas bacterianas de superfície e da possível inibição da síntese dos polissacarídeos extracelulares, extratos vegetais também poderiam competir com as adesinas bacterianas pela adesão aos receptores do hospedeiro, como observado por Daglia et al.¹⁹ (1998). Nesse estudo, os autores

responsabilizaram o ácido nicotínico, o ácido clorogênico, a cafeína e a trigonelina como responsáveis pelo fenômeno. Entretanto, no presente estudo, esses compostos não poderiam responder pelos resultados visto que a superfície do vidro não possui os mesmos tipos de receptores que podem ser encontrados na película adquirida, a menos que se tivesse criado condições para a deposição de proteínas típicas da saliva e do sangue.

Uma vez que a agregação e a adesão bacteriana a células do hospedeiro dependem da interação de adesinas presentes na superfície da bactéria e receptores do hospedeiro, os fenóis contidos nos extratos de plantas poderiam também desnaturar as proteínas da superfície bacteriana, inibindo a ligação adesina / receptor. Entretanto esse fenômeno somente poderia ser confirmado para os extratos utilizados no presente estudo por meio de ensaios que permitissem a formação de uma estrutura semelhante à película adquirida, como já mencionado.

Entretanto, para se confirmar esses resultados, tornam-se necessários novos estudos como forma de se avaliar em qual etapa do processo de adesão os extratos viriam a exercer maior influência e quais componentes teriam maior atividade na inibição desse processo.

O estudo da capacidade de adesão às células do hospedeiro constitui um importante instrumento para se compreender a colonização da bolsa periodontal por microrganismos autóctones a esse ambiente (MONGIELLO & FALKLER JÚNIOR.⁷¹, 1979). Nesse sentido Falkler Júnior. & Hawley²⁹ (1977) relataram que a capacidade de *F. nucleatum* em aderir a eritrócitos (hemaglutinação) estava intimamente relacionada à adesão às células epiteliais e demais células humanas.

Apenas os extratos aquosos vegetais capazes de apresentar hemaglutinação (Quadro 14) foram o caule de cancerosa (*M. ilicifolius*), casca de candeia (*P. rotundifolia*) e folha de figueira (*F. enormis*). No entanto o único extrato que promoveu hemaglutinação em diluição superior ao apresentado no grupo controle foi o extrato de folha

de figueira (*F. enormis*) frente a *F. nucleatum* ATCC 25586. A maioria dos extratos testados provocou intensa hemólise (apêndice A). Apesar das espécies vegetais apresentarem a capacidade de produzir hemólise (NASCIMENTO et al.⁷⁵, 1990) esse fato não mostra correlação com a atividade antimicrobiana apresentada pelas mesmas.

O conhecimento sobre a atividade antimicrobiana de espécies vegetais mostra-se importante não somente para a saúde humana diretamente, atuando sobre bactérias patogênicas, mas também sobre microrganismos que são capazes de causarem danos ao ambiente e principalmente que afetam plantas economicamente importantes, dentre as quais, cereais, plantas ornamentais e madeira (DINIZ et al.²³, 2003), além disso, há que se considerar que, na atualidade, as bactérias que causam prejuízos à saúde humana possuem resistência à maioria dos antimicrobianos (REHDER et al.⁹⁰, 2004) e várias tecnologias são sugeridas para resolver o problema da resistência desses microrganismos, tais como a seleção de novos antimicrobianos a partir de espécies vegetais.

No Brasil, estudos com a mesma finalidade são de grande importância, uma vez que plantas medicinais têm sido utilizadas em várias áreas da saúde como forma alternativa de tratamento e prevenção. Apesar da redução no índice CPOD observado em nosso país, novas modalidades preventivas devem ser pesquisadas e caso apresentem eficácia, adicionadas aos programas preventivos já existentes, principalmente pela concentração do risco à cárie em determinados grupos populacionais e alta prevalência de doenças periodontais. No Brasil, deve-se destacar a utilização de plantas medicinais como forma alternativa de tratamento e prevenção de doenças, pois além do menor custo, nosso país apresenta rica biodiversidade vegetal, ainda pouco explorada e muito ameaçada (REHDER et al.⁹⁰, 2004).

Já se vive o terceiro milênio e, entretanto, ainda há grande necessidade de investimentos em pesquisa, educação ambiental e programas de conservação de áreas intactas ou de recomposição de

áreas degradadas. Essa necessidade é dependente e deveria estar associada a uma mudança da postura econômica e política que marcaria a distinção entre o modelo vigente e um modelo adequado de utilização sustentável dos cerrados brasileiros (GUARIM NETO & MORAIS⁴¹, 2003).

Quando se constata a quantidade de espécies com potencial medicinal na flora do cerrado deve-se questionar a substituição (destruição) desta diversidade em favor de espécies exóticas. Pode-se considerar a vegetação do cerrado pobre e sem recursos de interesse? Esse bioma tem possibilidades de aproveitamento sustentável e a atual forma de manejo e aproveitamento do cerrado, na maioria das vezes imediatista, pode levar à extinção de muitas espécies endêmicas (GUARIM NETO & MORAIS⁴¹, 2003).

7 CONCLUSÕES

O presente estudo permitiu concluir que:

- a) a ocorrência de plantas com atividade antimicrobiana mostrou-se elevada;
- b) os mesmos extratos que mostraram maior atividade inibitória sobre microrganismos em estado planctônico também revelaram atividade semelhante frente aos cultivados em biofilmes, com exceção do extrato da folha da figueira, caroba e louro-de-mato-grosso;
- c) a maioria dos extratos vegetais testados inibiu a adesão de *S. mutans* sobre a superfície lisa do vidro;
- d) sobre *S. mutans* ATCC 35688, os extratos de aroeira, candeia e guajuvira foram os que mais afetaram a adesão microbiana enquanto sobre *S. mutans* ATCC 1910 os extratos de aroeira, araçá, jacarandá e guajuvira foram os que mais afetaram a adesão microbiana;
- e) a maioria dos extratos testados não inibiu a capacidade hemaglutinante de *F. nucleatum* ATCC1095 e ATCC 25586.

8 REFERÊNCIAS*

- 1 ALALUUSUA, S. et al. Mutacin activity of strains isolated from children with varying levels of mutants streptococci and caries. **Arch Oral Biol**, v.36, n.4, p.251-5, 1991. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 25 mar. 2004. (Abstract).
- 2 ALVES, T. M. A. et al. Biological screening of brazilian medicinal plants. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.95, n.3, p.367-73, 2000. Disponível em: <http://www.bireme.br/scielo>. Acesso em: 25 mar. 2004.
- 3 AMOROZO, M.C.M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antonio do Leverger, MT, Brasil. **Acta Bot Bras**, v.16, n.2, p.189-203, 2002. Disponível em: <http://www.bireme.br/scielo>. Acesso em: 25 mar. 2004.
- 4 ANDERSON, L. O.; ROJAS, E. H. M.; SHIMABUKURO, Y. E. Avanço da soja sobre os ecossistemas cerrado e floresta no Estado do Mato Grosso. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 11, 2003, Belo Horizonte. **Anais**, São José dos Campos: INPE, 2003. p.19-25. Disponível em: <http://www.bireme.br/scielo>. Acesso em: 25 mar. 2004.
- 5 ANESINI, C.; PERES, C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. **J Ethnopharmacol**, v.39, p.119-28, 1993.
- 6 BABU, J. P.; DEAN, J. W.; PABST, M. J. Attachment of *Fusobacterium nucleatum* to fibronectin immobilized on gingival epithelial cells or glass coverslips. **J Periodontol**, v.66, n.4, p.285-90, 1995.

*Baseado em:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Rio de Janeiro. **Informação e documentação**: referências, elaboração, NBR 6023. Rio de Janeiro, 2002. 23p.

- 7 BATALHA, M. A; MANTOVANI, W.; MESQUITA JÚNIOR, H. N. Vegetation structure in cerrado physiognomies in south-eastern Brazil. **Braz J Biol**, v.61, n.3, p.475-83, 2001. Disponível em: <http://www.bireme.br/scielo>. Acesso em: 25 mar. 2004.
- 8 BOLSTAD, A. I; JENSEN, H. B; BAKKEN, V. Taxonomy, biology, and periodontal aspects of *Fusobacterium nucleatum*. **Clin Microbiol Rev**, v.9, p.55-71, 1996. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 25 mar. 2004. (Abstract).
- 9 BROOK, I.; FRAZIER, E. H. Bacteriology and beta-lactamase activity in acute exacerbation of chronic bronchitis. **Int J Infect Dis**, v.5, n.2, p.74-7, 2001.
- 10 CASTELLUCCI, S.; LIMA, M. I. S.; NORDI, N.; MARQUES, J. G. W. Plantas medicinais relatadas pela comunidade residente na estação ecológica de Jataí, Município de Luís Antônio/SP: uma abordagem etnobotânica. **Rev Bras PI Med**, v.3, n.1, p.51-60, 2000.
- 11 CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A. A dialética do conhecimento no uso das plantas medicinais. **Rev Bras PI Med**, v.3, n.2, p.19-21, 2001.
- 12 CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Quím. Nova**, v.21, n.1, p.99-105, 1998. Medline. Disponível em: <http://www.bireme.br/scielo>. Acesso em: 25 mar. 2004.
- 13 CHRISTERSSON, L. A. et al. Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontitis. **J Periodontol**, v.58, p.528-39, 1987. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 25 mar. 2004. (Abstract).
- 14 CIARDI, J. E. et al. Rapid quantitative determination of the effect of antiplaque agentes and antisera on the growth, acid production, and

- adherence of *Streptococcus mutans*. **J Dent Res**, v.60, n.3, p.756-62, 1981.
- 15 CLANCY, K. A. et al. Characterization of recombinant, ureolytic *Streptococcus mutans* demonstrates an inverse relationship between dental plaque ureolytic capacity and cariogenicity. **Infect Immun**, v.68, n.5, p.2621-9, 2000.
- 16 CORDEIRO, R; NUNES, V DO A.; ALMEIDA, C. R. **Plantas que curam**. 2.ed. São Paulo: Editora Três, 1996. 550p.
- 17 COSTA, T.; BIER, I. C.; GAIDA, F. Dextran hydrolysis by a *Fusobacterium* strain isolated from human dental plaque. **Archs Oral Biol**, v.19, p.341-2, 1974.
- 18 CURY, J. A. Concentração de fluoreto em chás brasileiros e seu significado na prevenção de cárie. **Rev Gaúcha Odontol**, v.29, n.2, p.136-8, 1981.
- 19 DAGLIA, M. et al. Isolation of an antibacterial component from roasted coffee. **J Pharm Bio Anal**, v.18, p.219-25, 1998.
- 20 DARENFED, H.; GRENIER, D.; MAYRAND, D. Acquisition of plasmin activity by *Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum* and potencial contribution to tissue destruction during periodontitis. **Infect Immun**, v.67, n.12, p.6439-44, 1999.
- 21 DAROUT, I. A. et al. Salivary microbiota levels in relation to periodontal status, experience of caries and miswak use in Sudanese adults. **J Clin Periodontol**, v.29, n.5, p.411-20, 2002. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 25 mar. 2004. (Abstract).
- 22 DEMUTH, D. R. et al. Identification and analysis of fip A, a *Fusobacterium nucleatum* immunosuppressive factor gene. **Infect Immun**, v.64, n.4, p.1335-41, 1996.

- 23 DINIZ, S. P. S. S. et al. Controle do fungo *Myrothecium verrucaria* por óleos essenciais. **Rev Bras PI Med**, v.6, n.1, p.60-2, 2003.
- 24 DI STASI, L. C. Plantas Medicinais: arte e ciência. **Um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: Editora UNESP, 1995. 230p.
- 25 EBERSOLE, J. L. et al. Host modulation of tissue destruction caused by periodontopathogens: effects on a mixed microbial infection composed of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. **Microbial Pathogenesis**, v.23, p.23-32, 1997.
- 26 EDSON, R. S. et al. Gas-liquid chromatography of positive blood cultures for rapid presumptive diagnosis of anaerobic bacteremia. **J Clin Microbiol**, v.15, n.6, p.1059-61, 1982.
- 27 ELVIN-LEWIS, M.; VITALE, M.; KOPJAS, T. Anticariogenic potential of commercial teas. **J Prev Dent**, v.6, p.273-84, 1980.
- 28 FALKLER JUNIOR, W. A.; BURGER, B. W. Microbial surface interactions: reduction of the haemagglutination activity of the oral bacterium *Fusobacterium nucleatum* by absorption with *Streptococcus* and *Bacteroides*. **Archs Oral Biol**, v.26, p.1015-25, 1981.
- 29 FALKLER JÚNIOR, W. A.; HAWLEY, C. E. Hemagglutinating activity of *Fusobacterium nucleatum*. **Infect Immun**, v.15, n.1, p.230-8, Jan. 1977.
- 30 FALKLER JÚNIOR, W. A.; CLAYMAN, E. B.; SHAEFER, D. F. Haemolysis of human erythrocytes by the *Fusobacterium nucleatum* associated with periodontal disease. **Archs Oral Biol**, v.28, n.8, p.735-9, 1983.
- 31 FARBER, P. A.; SELTZER, S. Endodontic microbiology. Etiology. **J Endodo**, v.14, n.7, p.363-71, 1988.
- 32 FEATHERSTONE, J. D. B. The science and practice of caries prevention. **J Am Dent Assoc**, v.131, p.887-9, 2000.

- 33 FELFINI, M. C.; FELFINI, J. M. Diversidade alfa e beta no cerrado *sensu stricto* da chapada pratinha Brasil. **Acta Bot Bras**, v.15, n.2, p.243-54, 2001. Medline. Disponível em: <http://www.bireme.br/scielo>. Acesso em: 25 mar. 2004.
- 34 FUKUSHIMA, K.; MOTODA, R.; IKEDA, T. Effects of exogenous insoluble glucan primer on insoluble glucan synthesis by *Streptococcus mutans*. **J Dent Res**, v.67, n.1, p.51-5, 1981.
- 35 GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E. **Fatores envolvidos na virulência de *Fusobacterium nucleatum* isolados de primatas humanos e não humanos. Estudo comparativo**. 1997. 127f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 36 GARCIA, W. G. Viagem de coleta etnológica aos kayová: recomendações úteis e instruções sumárias para coleta etnobotânica e etnozoológica a orientandos de pós-graduação. São Paulo: CEIMAM-UNESP, 1998, 373p.
- 37 GIBBONS, R. J.; NYGAARD, M. Synthesis of insoluble dextran and its significance in the formation of gelatinous deposits by plaque-forming streptococci. **Archs Oral Biol**, v.13, p.1249-62, 1968.
- 38 GOMES, B. P. F. A.; DRUCKER, D. B.; LILLEY, J. D. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. **Int Endod J**, v.27, p.291-8, 1994.
- 39 GONZÁLEZ-GAY, M. A. et al. Pyomyositis and septic arthritis from *Fusobacterium nucleatum* in a nonimmunocompromised adult. **J Rheumatol**, v.20, n.3, p.518-20, 1993.
- 40 GROPPPO, F. C. et al. Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil, and chlorhexidine against oral microorganisms. **Int Dent J**, v.52, n.6, p.433-7, 2002. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 27 jan. 2005. (Abstract).

- 41 GUARIM NETO, G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Bot Bras**, v.17, n.4, p.1-26, 2003. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/Scielo.br>. Acesso em: 27 jan. 2005.
- 42 HAAKE, S. K., LINDEMANN, R. A. *Fusobacterium nucleatum* T18 aggregates human mononuclear cells and inhibits their PHA-stimulated proliferation. **J Periodontol**, v.68, n.1, p.39-44, 1997.
- 43 HAN, Y. W. et al. Interactions between periodontal bacteria and human oral epithelial cells: *Fusobacterium nucleatum* adheres to and invades epithelial cells. **Infect Immun**, v.68, n.6, p.3140-6, 2000.
- 44 HARASZTHY, V. J. et al. Molecular cloning of the fur gene from *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **Infect Immun**, v.70, p.3170-9, 2002.
- 45 IZZO, A. A. et al. Biological screening of italian medicinal plants for antibacterial activity. **Phytotherapy Res**, v.9, p.281-86, 1995.
- 46 JAGTAP, A. G.; KARKERA, S. G. Potential of the aqueous extract of *Terminalia chebula* as an anticaries agent. **J Ethnopharmacol**, v.68, p.299-306, 1999.
- 47 JOUSIMIES-SOMER, H. et al. Bacteriologic findings in peritonsillar abscesses in young adults. **Clin Infect Dis**, v.16, Suppl 4, p.292-8, 1993.
- 48 JUNG, I. et al. Molecular epidemiology and association of putative pathogens in root canal infection. **J Endod**, v.26, p.599-604, 2000.
- 49 KASHKET, S. et al. Glucosyltransferase inhibition by tannin-like constituents of beverages. **J Dent Res**, v.64, n.1, p.212, 1985.
- 50 KLEINFELDER, J. W.; MÜLLER, R. F.; LANGE, D. E. Bacterial susceptibility to amoxicillin and potassium clavulanate in advanced periodontitis patients not responding to mechanical therapy. **J Clin Periodontol**, v.27, p.846-53, 2000.

- 51 KOLENBRANDER, P. E.; LONDON, J. Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence. **J Bacteriol**, v.175, n.11, p.3247-52, 1993.
- 52 KOO, H. et al. In vitro antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. **Archs Oral Biol**, v.45, n.2, p.141-8, 2000. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 27 jan. 2005. (Abstract).
- 53 KURIYAMA, T. et al. Past administration of β -lactam antibiotics and increase in the emergence of β -lactamase-producing bacteria in patients with orofacial odontogenic infections. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.89, n.2, p.186-92, 2000.
- 54 LANG, N. P.; RÄBER, K. Use of oral irrigators as vehicle for the application of antimicrobial agents in chemical plaque control. **J Clin Periodontol**, v.8, p.177-88, 1981.
- 55 LI, Y. H. et al. Natural genetic transformation of *Streptococcus mutans* growing in biofilms. **J Bacteriol**, v. 183, n.3, p. 897-908, 2000.
- 56 LIMA, C. A. A.; PASTORE, G. M.; LIMA, E. D. P., A. Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (CNLS) dos clones de cajueiro-anão-precoce CCP-76 e CCP-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal. **Cienc Tecnol Aliment**, v.20, n.3, 2000. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/SciELO.br>. Acesso em: 25 mar. 2004.
- 57 LIMSONG, J.; BENJAVONGKULCHAI, E.; KUVATANASUCHATI, J. Inhibitory effect of some herbal extracts on adherence of *Streptococcus mutans*. **J Ethnopharmacol**, v.92, n.2-3, p.281-9, 2004. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 27 jan. 2005. (Abstract).
- 58 LISTGARTEN, M. A. Microbiological testing in the diagnosis of periodontal disease. **J Periodontol**, v.63, p.332-37, 1992.

- 59 LOPES, A. M. **Influencia de aplicações do “laser” érbio: yag sobre a viabilidade microbiana, sua resistência a drogas e atividade hemolítica.** 2003. 174f. Dissertação (Mestrado em Odontologia, Área de Concentração em Periodontia) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba.
- 60 LOPES, M. F. G. et al. Caracterização físico-química de algumas espécies de plantas medicinais. **Rev Bras PI Med**, v.4, n.1, p.95-8, 2001.
- 61 LOPEZ, A.; HUDSON, J. B.; TOWERS, G. H. N. Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants, v.77, p.189-96, 2001.
- 62 LORENZI, H. Árvores brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4.ed. Nova Odessa - SP: Instituto Plantarum, 2002. 368p.
- 63 LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil. Nativas e exóticas. Nova Odessa – SP: Instituto Plantarum, 2002. 512p.
- 64 MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quím Nova**, v.25, n.3, p.429-38, 2002.
- 65 MANGAN, D. F. et al. Lectinlike interactions of *Fusobacterium nucleatum* with human neutrophils. **Infect Immun**, v.57, n.1, p.3601-11, 1989.
- 66 MARSH, P. D. Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. **Dent Clin North Am**, v.43, n.4, p.599-613, 1999.
- 67 MARTINS, E. R. et al. **Plantas medicinais.** Viçosa: Editora UFV, 2000. 220p.
- 68 MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas.** Fortaleza: Editora UFC, 2002. 267p.
- 69 MENDONÇA, R. C.; FELFILNI, J. M.; WALTER, B. M. T. Flora vascular do cerrado. In: **Cerrado, ambiente e flora.** Planaltina:

- Embrapa/CPAC, 1998. p.289-556 apud VIEIRA, R. F; MARTINS, M. V. M. Recursos genéticos de plantas medicinais do Cerrado: uma compilação de dados. **Rev Bras PI Med**, v.3, n.1, p.13-36, 2000.
- 70 MILGROM, P. et al. Dental caries and its relationship to bacterial infection, hypoplasia, diet and oral hygiene in 6- to 36-month-old children. **Community Dent Oral Epidemiol**, v.28, p.295-306, 2000. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 25 mar. 2004. (Abstract).
- 71 MONGIELLO, J. R.; FALKLER JÚNIOR, W. A. Sugar inhibition of oral *Fusobacterium nucleatum* haemagglutination and cell binding. **Archs Oral Biol**, v.24, p.539-45, 1979.
- 72 MOORE, W. E. C.; MOORE, L. V. H. The bacteria of periodontal diseases. **Periodontol 2000**, v.5, p.66-77, 1994.
- 73 MOORE, W. E. C. et al. Bacteriology of experimental gingivitis in young adult humans. **Infect Immun**, v.38, n.2, p.651-67, 1982.
- 74 NASCIMENTO, G. G. F. et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Braz J Microbiol**, v.31, n.4, p.1-16, 2000. Medline. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 10 jul. 2003.
- 75 NASCIMENTO, S. C.; CHIAPPETA, A. A.; LIMA, R. M. O. C. Antimicrobial and citotoxic activities in plants from Pernambuco, Brazil. **Fitoterapia**, v.61, n.4, p.353-5, 1990.
- 76 NAVARRO, D. F. et al. Efeitos do digluconato de clorexidina, *Plantago major* e placebo sobre placa dental e gengivite: uma comparação clínica da eficácia de colutórios. **Rev Bras PI Med**, v.1, n.1, p.28-38, 1998.
- 77 NEWBRUN, E.; FINZEN, F.; SHARMA, M. Inhibition of adherence of *Streptococcus mutans* to glass surfaces. **Caries Res**, v.11, p.153-9, 1977.

- 78 OGUNTEBI, B. et al. Predominant microflora associated with human dental periapical abscesses. **J Clin Microbiol**, v.15, n.5, p.964-6, 1982.
- 79 OLIVEIRA, F. Q. et al. Potencial das plantas medicinais como fonte de novos antimaláricos: espécies indicadas na bibliografia etnomédica brasileira. **Rev Bras PI Med**, v.5, n.2, p.23-31, 2003.
- 80 OOSHIMA , T. et al. Caries inhibitory activity of cacao bean husk extract in vitro and animal experiments. **Arch Oral Biol**, v.45, n.8, p.639-45, 2000. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 27 jan. 2005. (Abstract).
- 81 OTAKE, S. et al. Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea. **Caries Res**, v.25, p.438-43, 1991.
- 82 OZAKI, M. et al. Binding specificity of *Fusobacterium nucleatum* to human erythrocytes, polymorphonuclear leucocytes, fibroblasts, and HeLa cells. **J Periodont Res**, v.25, p.129-34, 1990.
- 83 PALOMBO, E. A.; SEMPLE, S. J. Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants. **J Ethnopharmacol**, v.77, p.151-7, 2001.
- 84 PAOLINO, V. J.; KASHKET, S.; SPARAGNA, C. A. Inhibition of dextran synthesis by tannic acid. **J Dent Res**, v.59, n.1, p.389, 1980.
- 85 PAZ, A. E. et al. Screening of Uruquayan medicinal plants for antimicrobial activity. **J Ethnopharmacol**, v.45, p.67-70, 1995.
- 86 PEROS, W. J.; GIBBONS, R. J. Influence of sublethal antibiotic concentrations on bacterial adherence to saliva-treated hydroxyapatite. **Infect Immun**, v.35, n.1, p.326-34, 1982.
- 87 PETERS, L. B.; WESSELINK, J. F.; VAN WINKELHOFF, A. J. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. **J Endod**, v.27, n.2, p.76-81, 2001.
- 88 QUIRYNEN, M. et al. Topical antiseptics and antibiotics in the initial therapy of chronic adult periodontitis: microbiological aspects.

- Periodontol** 2000, v.28, p.72-90, 2002. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 25 mar. 2004. (Abstract).
- 89 RAUTIO, M. et al. Bacteriology of histopathologically defined appendicitis in children. **Pediatr Infect Dis J**, v.19, n.11, p.1078-83, 2002. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 16 fev. 2002. (Abstract).
- 90 REHDER, V. L. G. et al. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum applii* e *Origanum vulgare*. **Rev Bras PI Med**, v.6, n.2, p.67-71, 2004.
- 91 RIBOT, S. et al. The role of anaerobic bacteria in the pathogenesis of urinary tract infections. **J Urol**, v.126, n.6, p.852-3, 1981.
- 92 RODRIGUES, E. Etnofarmacologia no parque nacional do Jaú, AM. **Rev Bras PI Med**, v.1, n.1, p.1-14, 1998.
- 93 ROGERS, A. H. et al. Some aspects of the growth and metabolismo of *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953 in continuous culture. **Oral Microbiol Immunol**, v.6, p.250-5, 1991.
- 94 ROQUES, C. G. et al. *Fusobacterium nucleatum* involvement in adult periodontitis and possible modification of strain classification. **J Periodontol**, v.71, n.7, p.1144-50, 2000.
- 95 RUPF, S. et al. Comparison of profiles of key periodontal pathogens in periodontium and endodontium. **Endod dent Traumatol**, v.16, n.6, p.269-75, Dec. 2000.
- 96 SANTOS, M. H. **Estudo químico dos frutos de *Rheedia gardneriana* (PL. TR.) e aplicações biológicas dos seus constituintes**. 1996. 114. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 1996 apud CASTRO, H. G; FERREIRA, F. A. A dialética do conhecimento no uso das plantas medicinais. **Rev Bras PI Med**, v.3, n.2, p.19-21, 2001.

- 97 SANTOS, P. R. V.; OLIVEIRA, A. C. X.; TOMASSINI, T. C. B. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. **Rev Farm Bioquím Univ S Paulo**, v.31, n.1, p.35-8, 1995 apud CASTRO, H. G; FERREIRA, F. A. A dialética do conhecimento no uso das plantas medicinais. **Rev Bras PI Med**, v.3, n.2, p.19-21, 2001.
- 98 SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v.30, n.12, p3875-83, 1991.
- 99 SHU, M. et al. Development of multi-species consortia biofilms of oral bacteria as an enamel and root caries model system. **Archs Oral Biol**, v.45, p.27-40, 2000.
- 100 SILVA, S. R. S. et al. Análise dos constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Rev Bras PI Med**, v.6, n.1, p.63-70, 2003.
- 101 SLOTS, J. Seletive medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **J Clin Microbiol**, v.15, p.6006-9, 1982. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 25 mar. 2004. (Abstract).
- 102 SLOTS J; GENCO, R. J. Black-pigmented *Bacteroides* species and *Capnocytophaga* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. **J Dent Res**, v.63, p.412-21, 1984. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 25 mar. 2004. (Abstract).
- 103 SOUZA BRITO, A. R. M.; SOUZA BRITO, A. A. Forty years of brazilian medical plant research. **J Ethnopharmacol**, v.39, p.53-67, 1993 apud GUARIM NETO, G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Bot Bras**, v.17, n.4, 2003.

- 104 SPRATT, D. A. et al. An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates. **Int Endod J**, v.34, p.300-7, 2001.
- 105 STRALFORS, A. Effect on hamster caries by purine derivatives vanillin and some tannin-containing materials. *Archs Oral Biol*, v.12, p.321-32, 1967.
- 106 SUNDQVIST, G. Associations between microbial species in dental root canal infections. **Oral Microbiol Immunol**, v.7, n.5, p.257-62, 1992.
- 107 SUNDQVIST, G.; JOHANSSON, E. Bactericidal effect of pooled human serum on *Bacteroides melaninogenicus*, *Bacteroides asaccharolyticus* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **Scand J Dent Res**, v.90, p.29-36, 1982.
- 108 SVEEN, K.; SKAUG, N. Bone resorption stimulated by lipopolysaccharides from *Bacteroides*, *Fusobacterium* and *Veillonella*, and by the lipid A and the polysaccharide part of *Fusobacterium* lipopolysaccharide. **Scand J Dent Res**, v.88, 535-42, 1980.
- 109 TANNER, A. et al. Microbiota of health, gingivitis, and initial periodontitis. **J Clin Periodontol**, v.25, p.85-98, 1998.
- 110 TRUANT, A. I. et al. *Fusobacterium nucleatum* pericarditis. **J Clin Microbiol**, v.17, n.2, p.349-51, 1983.
- 111 TSUCHIYA, H. et al. Inhibition of growth of cariogenic bacteria in vitro by plant flavanones. **Experientia**, v.50, n.9, p.846-9, 1994.
- 112 VAN PALENSTEIN HELDERMAN, W. H. Total viable count and differential count of *Vibrio (campylobacter) sputorum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Selenomonas sputigena*, *Bacteroides ochraceus* and *Veillonella* human gingival crevice. **J Periodontol Res**, v.10, n.5, p.290-305, 1975. Medline. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/PubMed/>. Acesso em: 26 fev. 2002. (Abstract).

- 113 VIEIRA, R. F.; MARTINS, M. V. M. Recursos genéticos de plantas medicinais do cerrado: uma compilação de dados. **Rev Bras PI Med**, v.3, n.1, p.13-36, 2000.
- 114 VIGIL, G. V. et al. Identification and antibiotic sensitivity of bacteria isolated from periapical lesions. **J Endod**, v.23, n.2, p.110-4, 1997.
- 115 VOLPATO, G. T. et al. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do *Diabetes mellitus*. **Rev Bras PI Med**, v.4, n.2, p.35-45, 2002.
- 116 WOLINSKY, L. E.; SOTE, E. O. Isolation of natural plaque-inhibiting substances from "Nigerian chewing sticks". **Caries Res**, v.8, p.216-25, 1984.
- 117 WU-YUAN, C. D.; CHEN, C. Y.; WU, R. T. Gallotannins inhibit growth, water-insoluble glucan synthesis, and aggregation of *mutans* streptococci. **J Dent Res**, v.67, n.1, p.51-5, 1988.
- 118 XIE, H.; Gibbons, R. J.; HAY, D. I. Adhesive properties of strains of *Fusobacterium nucleatum* of the subspecies *nucleatum*, *vicentii* and *polymorphum*. **Oral Microbiol Immunol**, v.6, p.257-63, 1991.

ANEXO A - Formas de Utilização de Plantas Medicinais (LORENZI & MATOS⁶³, 2002)

As formas mais comumente usadas nos tratamentos caseiros com plantas medicinais são:

a) Aluá: bebida parcialmente fermentada feita com raízes amiláceas. É preparado triturando-se, inicialmente, a raiz e colocando em recipiente fechado com água. Após um dia completo em repouso, coa-se e toma-se adoçado e gelado.

b) Cataplasma: preparação feita com farinha de trigo e água, geralmente a quente e adicionada ou não da planta triturada, às vezes usando o cozimento da planta ao invés da água. É aplicada sobre a pele da região afetada entre dois panos finos. As plantas frescas são aplicadas diretamente sobre a parte afetada ou envolvidas em pano fino ou gaze.

c) Chás:

- por infusão: neste processo os chás são preparados juntando-se água fervente sobre os pedaços de erva, misturando-os e deixando em repouso por 5 – 10 minutos até que alcance a temperatura ideal para ser ingerido.

- por decocção ou cozimento: coloca-se a planta em água fria e leva-se a ferver. O tempo de ferver varia de acordo com cada espécie de planta, dependendo da consistência da mesma.

- por maceração: a planta é amassada ou picada e mergulhada em água fria, durante 10 a 24 horas, dependendo da parte utilizada. O recipiente deve permanecer em local fresco,

protegido da luz solar direta, podendo ser agitado periodicamente.

d) Inalação: preparação que aproveita a ação combinada de vapor de água quente com aroma de drogas voláteis.

e) Lamedor ou xarope: preparação espessada com açúcar. Junta-se o chá por infusão com açúcar cristalino. Pode ser obtido o xarope a frio ou quente.

f) Pós: a planta é seca e depois triturada até que fique somente pó.

g) Sinapismo: é um tipo especial de cataplasma à qual se adiciona mostarda, pimenta malagueta, gengibre ou outras plantas que provocam rubefação ou tornam a pele bem vermelha.

h) Tintura: preparação por maceração ou percolação com álcool ao invés de água. O processo mais prático é o da maceração. Em geral deixam-se as partes frescas ou secas, grosseiramente trituradas, mergulhadas em álcool por oito à dez dias.

i) Vinho medicinal: preparação geralmente feita com vinho tinto no qual se deixa em maceração durante oito dias, uma ou mais plantas.

ANEXO B – [Fórmula de soluções e meios de cultura utilizados]**1 Solução de PBS**

| | |
|---|--------|
| Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O..... | 2,898g |
| KH ₂ PO ₄ | 0,2g |
| NaCl..... | 7,65g |
| KCl..... | 0,2g |
| H ₂ O..... | 1000mL |

2 Caldo peptona-extrato de levedura (caldo PY)

| | |
|----------------------------------|-------|
| Peptona..... | 0,5g |
| Caldo de soja tripticaseína..... | 0,5g |
| Extrato de levedura..... | 1,0g |
| Solução de sais..... | 4,0mL |
| L-cisteína..... | 0,05g |
| H ₂ O..... | 100mL |

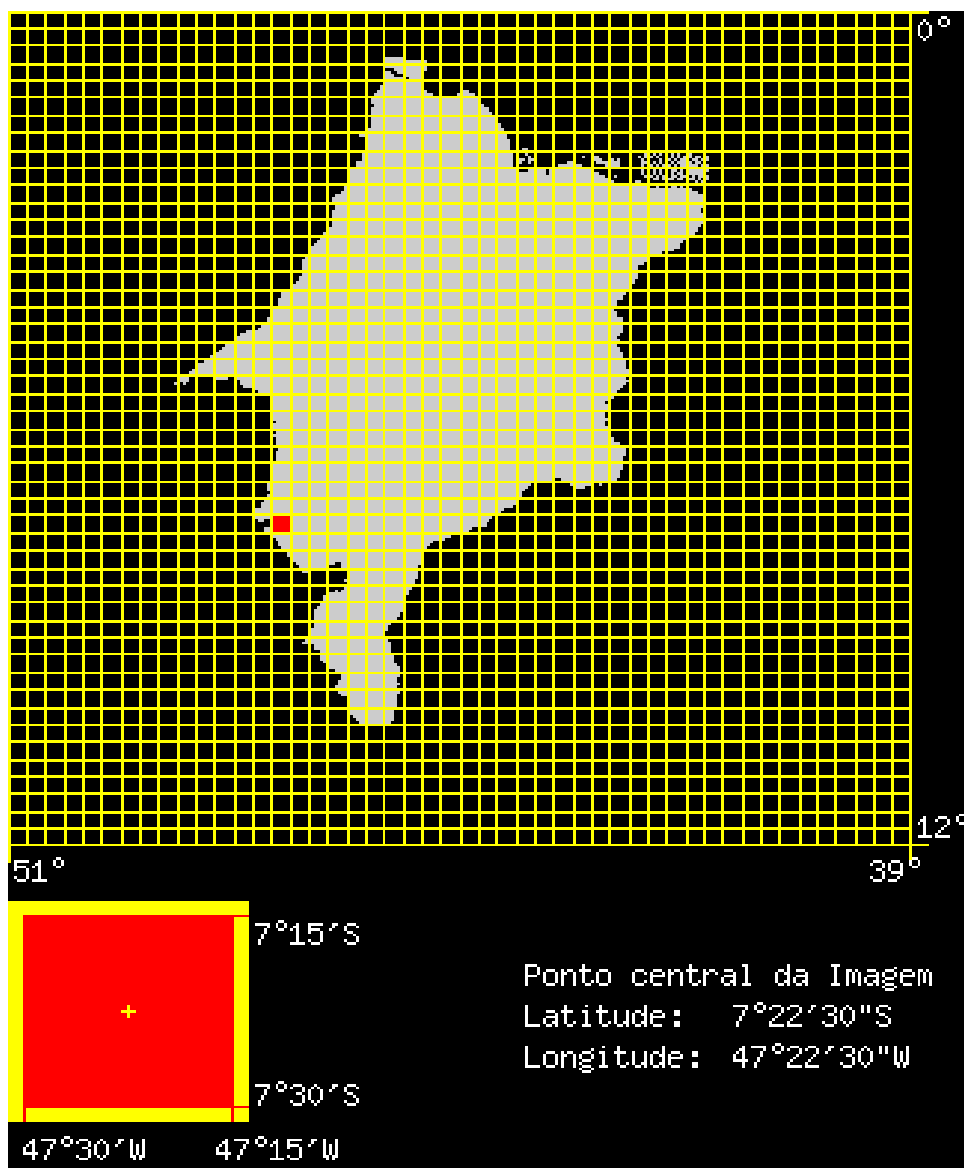
3 Solução de sais para caldo PY

| | |
|---------------------------------------|--------|
| CaCl ₂ | 0,2g |
| MgSO ₄ | 0,2g |
| K ₂ HPO ₄ | 1,0g |
| KH ₂ PO ₄ | 1,0g |
| NaCl..... | 2,0g |
| NaHCO ₃ | 10,0g |
| H ₂ O..... | 1000mL |

4 Tampão fosfato uréia magnésio (PUM)

| | |
|----------------------------|--------|
| K_2HPO_4 | 22,2g |
| KH_2PO_4 | 7,26g |
| Uréia..... | 1,8g |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0,2g |
| H_2O | 1000mL |

ANEXO C – Ilustrações espaciais dos Estados do Maranhão e Mato Grosso do Sul, vegetação e relevo predominante nas áreas da cidade de Carolina – MA e Camapuã - MS



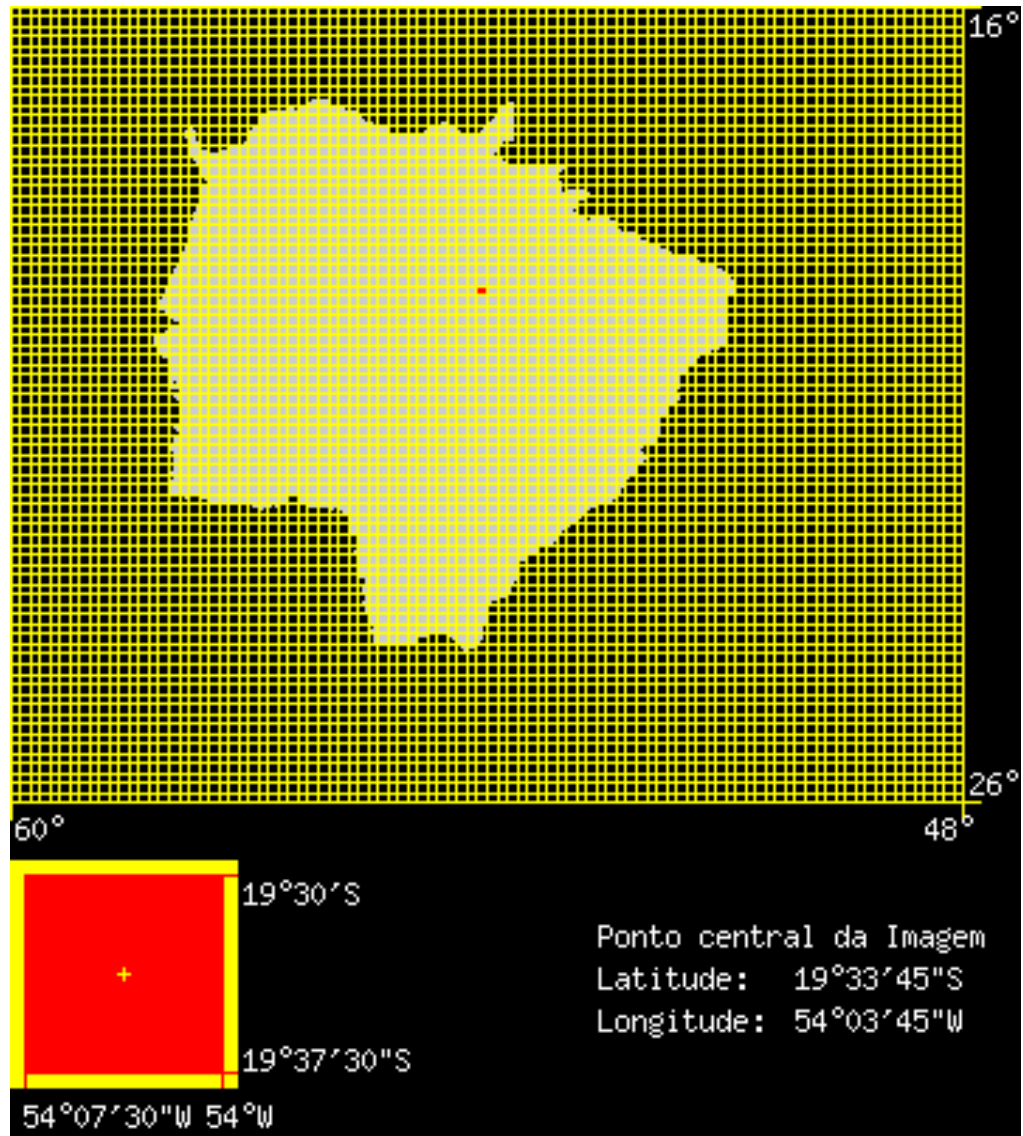
MIRANDA, E. E. de; COUTINHO, A. C. (Coord.). **Brasil Visto do Espaço**. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2004. Disponível em: <<http://www.cdbrasil.cnpm.embrapa.br>>.

FIGURA 1 - Mapa do Estado do Maranhão e localização espacial da cidade de Carolina



MIRANDA, E. E. de; COUTINHO, A. C. (Coord.). **Brasil Visto do Espaço**. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2004. Disponível em: <<http://www.cdbrasil.cnpm.embrapa.br>>.

FIGURA 2 – Região da cidade de Carolina – MA, relevo e vegetação visto em fotografia por satélite.



MIRANDA, E. E. de; COUTINHO, A. C. (Coord.). **Brasil Visto do Espaço**. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2004. Disponível em: <<http://www.cdbrasil.cnpm.embrapa.br>>.

FIGURA 3 - Mapa do Estado do Mato Grosso do Sul e localização espacial da cidade de Camapuã



MIRANDA, E. E. de; COUTINHO, A. C. (Coord.). **Brasil Visto do Espaço**. Campinas: Embrapa Monitoramento por Satélite, 2004. Disponível em: <<http://www.cdbrasil.cnpm.embrapa.br>>.

FIGURA 4 – Região da cidade de Camapuã – MS, relevo e vegetação visto em fotografia por satélite.



FIGURA 5 - Laboratório de Bioquímica onde foram obtidos os extratos vegetais



FIGURA 6 - Estufa especial para secagem de plantas



FIGURA 7 - Folha de carne-de-vaca (*Roupala brasiliensis*) após secagem



FIGURA 8 - Caules e folhas secas de caroba (*Jacaranda cuspidifolia*)

APÊNDICE A - Dados complementares da atividade hemolítica dos extratos vegetais aquosos testados:

Quadro 15- Atividade hemolítica dos extratos vegetais aquosos testados:
(continua)

| Extrato vegetal | Hemólise sangue A+ |
|---|---------------------------|
| Casca de angico (<i>A. falcata</i>) | - |
| Folha de angico (<i>A. falcata</i>) | - |
| Casca de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | - |
| Folha de araçá (<i>P. cattleianum</i>) | + |
| Caule de arnica (<i>S. chilensis</i>) | - |
| Casca da aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | + |
| Folha da aroeira (<i>M. urundeuva</i>) | + |
| Casca do caju (<i>A. occidentale</i>) | - |
| Folha do cajuaçu (<i>A. giganteum</i>) | - |
| Caule de cancerosa (<i>M. ilicifolius</i>) | + |
| Casca da candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | + |
| Folha da candeia (<i>P. rotundifolia</i>) | - |
| Casca do capitão-do-campo (<i>T. argentea</i>) | - |
| Casca de cedro (<i>C. fissilis</i>) | - |
| Folha de cedro (<i>C. fissilis</i>) | - |
| Casca da figueira (<i>F. enormis</i>) | - |
| Folha da figueira (<i>F. enormis</i>) | - |
| Folha da carne-de-vaca (<i>R. brasiliensis</i>) | - |
| Folha de guajuvira (<i>P. americana</i>) | + |
| Casca do ipê roxo (<i>T. impetiginos</i>) | - |
| Folha do ipê roxo (<i>T. impetiginos</i>) | - |

Quadro - Atividade hemolítica dos extratos vegetais aquosos testados
(conclusão):

| Extrato vegetal | Hemólise sangue A+ |
|--|---------------------------|
| Casca do ipê amarelo | - |
| Folha do ipê amarelo | - |
| Casca do ipê branco | - |
| Folha do ipê branco | - |
| Casca de jacarandá (<i>P. elegans</i>) | - |
| Folha de caroba (<i>J. cuspidifolia</i>) | + |
| Folha de pau d'alho (<i>G. gorarema</i>) | - |
| Folha de pequi (<i>C. brasiliense</i>) | - |
| Casca de pequi (<i>C. brasiliense</i>) | - |
| Casca de louro-de-mato-grosso | - |
| Folha de louro-de-mato-grosso | - |
| Casca de balsaminho | + |
| Folha de balsaminho | - |

LANDUCCI, L. F. **Inhibitory activity of plants extracts from brazilian savanna on oral bacterias.** 2005. 103f. Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista. São José dos Campos.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate antimicrobial activities of plants extracts from brazilian savanna on oral microorganisms and the ability of these extracts to inhibit adhesion of Streptococcus mutans ATCC 35688 and ATCC 1910 to glass surfaces and to inhibit the ability of Fusobacterium nucleatum ATCC 10953 and ATCC 25586 to hemagglutinate human erythrocytes. It was used 22 plant species commonly by employed in popular medicinal in landscapes of savanna from which were prepared 33 hidroalcoholic extracts and 33 aqueous extracts. At first it was performed a trial by used a disc dilution method to determine the antimicrobial activity of the extracts. Following it was carried out tests to evaluate the maximum inhibitory dilution of the extracts through an broth dilution method. The influence of subinhibitory concentrations of the extracts on S. mutans ATCC 35688 and ATCC 1910 adhesion to glass surface was evaluated by using glass sticks. The influence of these extracts on agglutination of human erythrocytes by fusobacteria was determinate in microtitulation plates. It was realized that nearly 27% of the tested extracts have shown antimicrobial activity on S. mutans, while 24% of hidroalcoholic extracts and 15% of aqueous extracts have demonstrated the same action on at least one of tested fusobacteria. Concluded that extracts of aroeira, araçá, candeia, jacaranda and guajuvira to be able to reduce significantly mutans streptococci adhesion to glass surface, while the most of extracts no evidence ability to reduce hemagglutination by tested fusobacteria.

KEYWORDS: Medicinal plants; Streptococcus mutans; adhesion; hemagglutination; Fusobacterium nucleatum.

Autorizo a reprodução xerográfica deste trabalho

São José dos Campos, 26 de Fevereiro de 2005

Luís Fernando Landucci

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)