

UNIVERSIDADE SAGRADO CORAÇÃO

JULIANA DE TOLEDO SILVA BANZATO

**Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de
extratos de *Arctium lappa* L. (bardana) e *Casearia sylvestris*
Swart (guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus*
faecalis isolados da cavidade oral**

Bauru
2009

JULIANA DE TOLEDO SILVA BANZATO

Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos de *Arctium lappa* L. (bardana) e *Casearia sylvestris* Swart (guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia, sob orientação do Prof. Dr. Paulo Henrique Weckwerth.

Bauru
2009

B2199c

Banzato, Juliana de Toledo Silva

Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos de *Arctium lappa* L. (bardana) e *Casearia sylvestris* Swart (guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral / Juliana de Toledo Silva -- 2009.

31f.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Weckwerth
Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Farmácia)
- Universidade Sagrado Coração - Bauru - SP.

1. *Enterococcus faecalis* 2. Guaçatonga. 3. Bardana. 4. Endodontia. 5. Atividade Antimicrobiana. I. Weckwerth, Paulo Henrique. II. Título.

JULIANA DE TOLEDO SILVA BANZATO

Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos de *Arctium lappa* L. (bardana) e *Casearia sylvestris* Swart (guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade Sagrado Coração como parte dos requisitos para obtenção do grau em Farmácia, sob orientação do Prof. Dr. Paulo Henrique Weckwerth.

Banca Examinadora:

Prof. Ms. Rodrigo Ricci Vivan
Universidade Estadual Paulista

Prof. Esp. Fernando Tozze Alves Neves
Universidade Sagrado Coração

Bauru, 09 de dezembro de 2009.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por abençoar e iluminar meu caminho.

À meu orientador **Prof. Dr. Paulo Henrique Weckwerth**, pelas oportunidades, inspiração, exemplo de seriedade, competência e dedicação, pela colaboração e tempo dedicado para tornar possível a realização desse trabalho desde os meus primeiros passos até sua finalização.

À **Profa. Ms. Setsuko Sato**, por todo o tempo dedicado na co-orientação, onde em momento algum se limitou a se esforçar na realização desse trabalho.

Ao **Prof. Esp. Fernando Tozze Alves Neves**, pela colaboração na minha formação, pelo exemplo de responsabilidade e competência e pela contribuição valiosa na confecção deste trabalho.

Ao **Prof. Ms. Rodrigo Ricci Vivan** por ter aceito o convite para participar da minha banca.

À **Universidade Sagrado Coração (USC)**, por permitir que parte deste trabalho fosse realizada em seu Laboratório de Biologia e Clínica Endodônticas.

À equipe do Laboratório de Biologia, **Fabiane Bortoluci e Lígia Belmonte**, pela dedicação e paciência com que me auxiliaram.

Aos meus amigos **Cristiane Carnietto, Natália Siquinelli, João Paulo Ximenez, Fausto Bartolo, Ederli Gasparelo** pela amizade e carinho que dedicaram á mim durante toda esta jornada e por não medir esforços em me ajudar.

Aos **meus pais** que sempre acreditaram, confiaram e torceram por mim, pelo amor incondicional, pelo exemplo de vida e por acompanharem cada momento da minha vida com dedicação e amor.

Aos **meus irmãos**, pelo carinho e alegria de cada momento que passamos juntos.

A todos os **meus familiares** e demais **amigos**, que sempre torceram pelo meu sucesso, e de uma forma ou de outra, colaboraram na elaboração deste trabalho.

Ao **meu Pai (in memória)**, por quem tenho um amor incondicional e eterna gratidão, e a certeza que estará sempre ao eu lado torcendo por mim.

“O que eu sei, passo adiante.”

Galileu Galilei

RESUMO

Enterococcus faecalis são importantes agentes de doenças humanas devido principalmente à sua elevada resistência aos agentes antimicrobianos e seus inúmeros fatores de virulência. Sua etiopatogenia nos processos infecciosos da cavidade oral vem sendo amplamente discutida. Os enterococos têm sido implicados em infecções endodônticas, comumente detectados em canais radiculares obturados exibindo sinais de periodontite apical crônica e lesões refratárias periapicais. É de preocupação do Cirurgião Dentista um completo saneamento do sistema de canais radiculares pela aplicação de medicação antisséptica entre sessões. Diante desta problemática e da necessidade de busca constante de substâncias que apresentem boa capacidade antisséptica e sejam naturais, com menor toxicidade para serem utilizadas na terapia odontológica e endodôntica, é de suma importância testar o extrato propilenoglicólico de *Arctium lappa* L.(bardana) e *Casearia sylvestris* Swart por serem facilmente encontradas, e então de custo baixo. Esta pesquisa tem como objetivo geral avaliar o poder antimicrobiano da *Arctium lappa* L. e da *Casearia sylvestris* S. frente a 50 linhagens de *E. faecalis* previamente recuperadas de amostras da cavidade oral de pacientes atendidos no serviço de Endodontia da Clínica de Odontologia da Universidade Sagrado Coração, Bauru-SP. Os testes foram realizados pelo método da difusão radial das substâncias a partir de discos impregnados sobre a superfície de placas com ágar Mueller-Hinton frente ao extratos e a infusão acima citados das plantas. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente através do teste de Goodman. No método de difusão dos extratos e infusões da *Casearia sylvestris* Sw. em ágar a partir de discos impregnados frente a 50 linhagens de *E. faecalis* os halos de inibição relacionados ao extrato propilenoglicólico tiveram variação de 0-7mm com uma média de 4,3mm. Em relação ao extrato alcóolico os halos de inibição tiveram uma variação de 0-10mm com uma média de 1,4mm. Os halos de inibição relacionados ao extrato aquoso tiveram uma variação de 0-8 mm com uma média de 2,1mm. Em relação a infusão de *Casearia sylvestris* Sw., o microrganismo se apresentou resistente. A partir dos resultados tidos com os extratos e infusão da *Arctim lappa* L., concluiu-se que estes não apresentam atividade antimicrobiana. Portanto, em relação aos extratos e a infusão de guaçatonga empregados no presente estudo, o de propilenoglicol apresentou-se com maior eficiência sobre as linhagens de *E. faecalis* isoladas da cavidade oral; e dentre os extratos e infusão de bardana testados no presente estudo, não apresentaram eficiência sobre as linhagens de *E. faecalis* isoladas da cavidade oral.

Palavras-Chave: *Enterococcus faecalis*. Guaçatonga. Bardana. Endodontia. Atividade Antimicrobiana.

ABSTRACT

Enterococcus faecalis is important agents of illnesses human beings due mainly to its raised resistance to agent antimicrobials and its innumerable factors of virulence. Its etiopatogenia in the infectious processes of the oral cavity comes being widely argued. The enterococci have been implied in endodontic infections, commonly detected in root canals filled showing signals of chronic apical periodontitis and injuries refractory periapical. It is of concern of Surgeon Dentist one complete sanitation of the system of root canals for the antiseptic medication application between sessions. Ahead of this problematic one and the necessity of constant substance search that presents good antiseptic capacity and is natural, with lesser toxicity to be used in the dentistry and endodontic therapy, it is of utmost importance to test the propylene glycol extract of *Arctium lappa* L. (bardana) and *Casearia sylvestris* Swart for being easily joined, and then of low cost. This research has as objective generality to evaluate the power antimicrobials of the *Arctium sylvestris* lappa L. and *Casearia sylvestris* Swart front the 50 *E. faecalis* strains of previously recouped of samples of the oral cavity of patients taken care of in the service of Endodontics of the Clinic of Odontology of the University of the Sacred Heart, Bauru-SP tests they had been carried through for method of diffusion radial of substances from records impregnated on the surface of plates with Mueller-Hinton agar front to extracts and the infusion above cited the plants. The gotten data had been analyzed statistical through the test of Goodman. In the method of diffusion of extracts and infusions of *Casearia sylvestris* Sw. in agar from impregnated records front the 50 *E. faecalis* ancestries of the related halos of inhibition to the propylene glycol extract had had variation of 0-7 mm with a average of 4,3mm. In relation to the alcoholic extract the inhibition halos had had a variation of 0-10mm with a average of 1,4mm. The related halos of inhibition to the watery extract had had a variation of 0-8 mm with a average of 2,1mm. In relation the infusion of *Casearia sylvestris* Sw., the microorganism if presented resistant. Starting of the results had with extracts and infusion of the *Arctium lappa* L., concludes that these do not present antimicrobial activity. The microorganism if showed resistant. There fore, in relation to the used extracts and infusion of guaçatonga in the present study, of propilenoglicol it was presented with bigger efficiency on the isolated *E. faecalis* strains of the verbal socket; e amongst extracts and tested infusion of bardana in the present study, had not presented efficiency on the isolated *E. faecalis* strains of the verbal socket.

Word-Key: *Enterococcus faecalis*. Guaçatonga. Bardana. Endodontics. Antimicrobial activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 -	Sensibilidade <i>in vitro</i> de 50 estirpes de <i>E. faecalis</i> frente aos extratos infusão de <i>Casearia sylvestris</i> Sw.....	25
Figura 1 -	Subculturas puras de <i>E. faecalis</i> sob ângulos diferentes.....	23
Figura 2 -	Tubos de <i>E. faecalis</i>	23

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Sensibilidade <i>in vitro</i> de 50 estirpes de <i>E. faecalis</i> frente aos extratos e a infusão de <i>Casearia sylvestris</i> Sw. (mm).....	24
TABELA 2 -	Sensibilidade <i>in vitro</i> de 50 estirpes de <i>E. faecalis</i> frente aos extratos e a infusão de <i>Arctium lappa</i> L. (mm).....	25

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>E.faecalis</i> -	<i>Enterococcus faecalis</i>
DNA -	Ácido desoxirribonucléico
TNF -	Fator Necrose Tumoral
<i>Casearia sylvestris</i> S. -	<i>Casearia sylvestris</i> Swart
<i>Arctium lappa</i> L. -	<i>Arctium lappa</i> Lineu
CATI -	Coordenadoria de Assistência Técnica Integrada
USC -	Universidade do sagrado Coração
CLAE -	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
UNESP -	Universidade Estadual Paulista “Júlio de mesquita Filho”
FCA -	Faculdade de Ciências Agrônômicas
CLSI -	Clinical and Laboratory Standards Institute
<i>S.aureus</i> -	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>B.subtilis</i> -	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>M.smegmatis</i> -	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
BHI -	Brain Heart Infusion
UFC -	Unidade Formadora de Colônia
ATCC	American Type Culture Collection

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	<i>Enterococcus faecalis</i> (<i>E. Faecalis</i>)	11
1.2	<i>Arctium lappa</i> L.(Bardana)	13
1.2.1	Terpenos	14
1.3	<i>Casearia sylvestris</i> S.(Guaçatonga)	16
1.3.1	Taninos	17
1.3.2	Flavonóides	17
1.3.3	Óleos Essenciais	18
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	METODOLOGIA	20
3.1	COLETA DA PLANTA <i>Arctium lappa</i> L. E PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS E INFUSÃO	20
3.2	COLETA DA PLANTA <i>Casearia sylvestris</i> S. E PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS E INFUSÃO	21
3.3	LINHAGEM BACTERIANA	21
3.4	MÉTODO DA DIFUSÃO DOS EXTRATOS DA BARDANA E GUAÇATONGA A PARTIR DISCOS IMPREGNADOS	22
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	23
4	RESULTADOS	24
5	DISCUSSÃO	26
6	CONCLUSÕES	28
	REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Enterococcus faecalis*

O gênero *Enterococcus* inclui os enterococos clássicos previamente classificados como estreptococos do grupo D. São habitantes normais do trato gastrointestinal e em menor proporção da vagina e uretra masculina (KONEMAN et al., 2001).

Tornaram-se importantes agentes de doenças humanas devido principalmente à sua elevada resistência aos agentes antimicrobianos e seus inúmeros fatores de virulência recentemente mais estudados (KAYAOGLU; ORSTAVICK, 2004).

São cocos Gram positivos, arranjados aos pares ou em cadeias curtas, sendo dificilmente diferenciados microscopicamente de alguns estreptococos. São anaeróbios facultativos e crescem em temperatura de 35°C. Crescem sobre a superfície de agar sangue como colônias tipicamente gama-hemolíticas e sobre a superfície do ágar M-*Enterococcus* como colônias puntiformes de cor vermelho escuro até arroxeadas. Os enterococos toleram bile de boi a 40% e podem hidrolisar esculina. Ainda, crescem na presença de cloreto de sódio a 6,5%. São distinguidos de bactérias do gênero *Staphylococcus* pela incapacidade de produção de catalase (MURRAY et al., 1998).

Seus fatores de virulência têm sido amplamente estudados. Produzem citolisinas com atividade sobre hemácias humanas, ovinas e de cavalo. A substância de agregação é uma proteína codificada por plasmídeos responsável pela aglutinação dos microrganismos para facilitar a troca entre plasmídeos. As estirpes de *E. faecalis* produzem feromonas, pequenos peptídeos capazes de amplificar a transferência de DNA plasmidial por estirpes em processo conjugativo e também de amplificar a resposta inflamatório durante o processo infeccioso (KAYAOGLU; ORSTAVICK, 2004).

O ácido lipoteicóico é, além de adesina, um importante fator de virulência por induzir fator de necrose tumoral (TNF), modulando de forma agressiva a resposta imune. Produzem várias enzimas extracelulares como gelatinase e hialuronidase (KAYAOGLU; ORSTAVICK, 2004).

O *E. faecalis* causa infecções complicadas do trato urinário, bacteremia, endocardite, infecções pélvicas, sepse neonatal e mais raramente meningites (KONEMAN et al., 2001; MURRAY et al., 1998).

Embora seja uma espécie presente nos processos infecciosos gerais humanos, sua etiopatogenia nos processos infecciosos da cavidade oral vem sendo amplamente discutida.

Esta bactéria tem demonstrado habilidade para sobreviver sozinho no interior do canal radicular sem o suporte de outras bactérias. *E. faecalis* foi isolado em 38% dos dentes que apresentaram microrganismos recuperáveis, sugerindo que este é um importante agente no insucesso endodôntico. O fato do *E. faecalis* estar ausente ou em pequeno número em canais sem tratamento endodôntico, indica que essa bactéria pode penetrar no interior do canal durante o tratamento, sobreviver ao tratamento antimicrobiano e permanecer após a obturação (FABRICIUS et al., 1982).

A recuperação freqüente do *Enterococcus faecalis* de canais radiculares com insucesso do tratamento endodôntico tem sido amplamente relatada. Os *Enterococcus faecalis* estão presentes em canais radiculares não tratados endodônticamente e quando presentes eles usualmente compõem uma pequena porção da microbiota do canal radicular. O *Enterococcus faecalis* parece ter alta resistência a medicamentos usados durante o tratamento e este é um dos poucos microrganismos que tem mostrado *in vitro* resistir ao efeito antibacteriano do hidróxido de cálcio (WEIGER et al., 1995).

A clorexidina tem sido amplamente sugerida como material para anti-sepsia de canais radiculares entre sessões por possuírem ação antimicrobiana imediata, amplo espectro de ação sobre bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, anaeróbias, facultativas e aeróbias, leveduras e fungos, relativa ausência de toxicidade, capacidade de adsorção pela dentina e lenta liberação de substância ativa, prolongando sua atividade antimicrobiana residual (grande substantividade). O hidróxido de cálcio com diferentes veículos e concentrações tem sido o material de escolha como medicação intracanal por seu alto poder alcalinizante criando um ambiente desfavorável ao crescimento bacteriano (ESTRELA et al., 1999).

Apesar de sua ampla utilização, o hidróxido de cálcio não tem demonstrado eficácia sobre algumas cepas de microrganismos “in vivo”. Portanto, novas formulações e associações têm sido sugeridas, a fim de se encontrar uma alternativa mais eficaz para eliminação de bactérias do sistema de canais radiculares (VAHDAT; PITT FORD; WILSON, 1993).

No tratamento de dentes com polpa mortificada a busca de um ambiente asséptico é o principal objetivo.

Durante todas as etapas do tratamento endodôntico o uso de substâncias anti-sépticas se torna obrigatório para conseguir a destruição de microrganismos que estão contaminando o sistema de canais radiculares (ESTRELA et al., 2003).

Durante o preparo biomecânico emprega-se o hipoclorito de sódio em concentrações que variam entre 1 a 5% na intenção de dar um caráter anti-séptico durante o tratamento endodôntico (ESTRELA et al., 2003). O hipoclorito, apesar de ser uma substância

relativamente barata, no entanto, seu maior poder anti-séptico está associado a uma maior agressividade tecidual (TANOMARU FILHO, 2001; YESILSOY et al., 1995).

A clorexidina é uma alternativa, que apresenta boa capacidade anti-séptica (VAHDAT; PITT FORD; WILSON, 1993; YESILSOY et al., 1995), com menor agressividade (YESILSOY et al., 1995), porém é deficiente na sua capacidade de limpeza (YAMASHITA et al., 2003), além de ser um produto mais caro.

Novas alternativas têm sido buscadas para o emprego na terapia endodôntica como a utilização de produtos naturais como o própolis e fitoterápicos.

Dentre vários fitoterápicos, uma opção poderia ser o uso do extrato alcoólico e infusão da *Actium lappa* L., popularmente chamada bardana ou orelha-de-gigante.

1.2 *Arctium lappa* L.

É uma planta originária da Europa, norte da Ásia, Estados Unidos e Canadá. Crescem por todas as partes, desde o mar até as regiões montanhosas sob escombros, em terrenos baldios. Apesar de ser uma planta estrangeira, já se encontra aclimatada em todo o Brasil, medrando em lugares úmidos e sombreados, de preferência, em terrenos argilosos, onde há restos nitrogenados. É conhecida por diversas sinonímias populares, dependendo do país em que é encontrada: Lampazo, lampazo maior, bardana maior (Portugal), ruibarbo de caracol ou gobô (China) e burdock (Inglaterra), pega-massa (Brasil) (CASAMADA, 1968; ALONSO, 1989).

Planta herbácea perene da família das compostas (Compositae), de pequeno porte, bienal com ramos abundantes de aproximadamente 5cm de diâmetro. Quando adulta as ervas atingem de 100 a 150cm de altura (ALONSO, 1989; CORREA, 1984).

As folhas são alternas, pecioladas, largas e ásperas, com a parte superior verde e a inferior branco-esverdeada; as inferiores são cordiformes e as superiores ovais. O componente químico principal é a arctiopirina (ALONSO, 1989; CORREA, 1984).

As flores, vivazes e brilhantes, são azuladas e arroxeadas (purpúreas), reunidas em capítulos grandes de forma esférica (3 a 5cm de diâmetro). Os capítulos acham-se reunidos em um involúcro característico dispostos na extremidade do caule e dos ramos, que possuem brácteas unciformes (infrutescências espinhosas), o que lhes permite prenderem-se com facilidade ao pelo dos animais e as roupas dos homens (BOWN, 1996; CORREA, 1984; CASAMADA, 1968).

Possuem raízes napiformes que chegam a pesar 400g e ter 45cm de comprimento enquanto

novas, pois logo se ramificam e tornam-se lenhosas. Sua superfície externa é acinzentada, rugosa, com estrias longitudinais bastante profundas. Sua fratura é nítida e granulosa. Sua secção transversal apresenta uma casca que tem aproximadamente $\frac{1}{4}$ do tamanho do raio, de cor branca, separada por uma linha freqüentemente pouco visível do corpo central, que é de cor branca levemente amarelada. Estrias radiais bem nítidas sulcam o cilindro lenhoso e vão perder-se a pouca distancia da periferia. Quando seca, a raiz da bardana tem cheiro pouco pronunciado, que aumenta bastante e torna-se desagradável quando a droga é respirada em massa. Seu sabor é mucilaginoso, um pouco adocicado a principio e depois levemente amargo (CORREA, 1984; BOWN, 1996; CASAMADA, 1968).

Nas partes utilizadas como as raízes encontramos a inulina de 40 a 60%, os poliacetilenos, a fitohemaglutinina, os sais de potássio, taninos, óleos essenciais, enquanto nas folhas temos a arctiopicrina. Tanto os compostos insaturados como a arctiopicrina apresentam atividade antimicrobiana *in vitro* contra germes Gram positivos e fungos. A raiz da bardana tem sido muito eficaz em casos de furunculoses múltiplas, úlceras varicosas, adenites e otites. A atividade antimicrobiana da bardana tem sido atribuída aos constituintes poliacetilênicos. Suas flores e folhas têm se mostrado eficientes contra germes Gram negativos e Gram positivos, (*S. aureus*, *B. subtilis*, *M. smegmatis*), possivelmente devido a ação da arctiopicrina, um terpenóide (ALONSO, 1989).

1.2.1 Terpenos

Os terpenos formam uma diversificada família de substâncias naturais. Estes compostos encontram-se em sementes, flores, folhas, raízes e madeira de plantas superiores assim como no musgo, algas e líquens. Do ponto de vista químico, são hidrocarbonetos, compostos apenas por carbono e hidrogênio. Alguns são os precursores de certas vitaminas, como A, K, e E (SIMÕES et al., 2001).

Tradicionalmente considerou-se como derivados do 2-metil-butadieno, mais conhecido como isopreno. A utilização da regra do isopreno permitiu classificá-los e estudá-los num primeiro momento, no entanto, com o tempo percebeu-se que os terpenos não derivam do isopreno, uma vez que este nunca foi encontrado como produto natural. O verdadeiro percusor dos terpenos é o ácido mevalônico o qual provém da acetil coenzima A. Em qualquer caso, a divisão da estrutura dos terpenos em unidades de isopreno é muito útil e se utiliza com bastante freqüência (SIMÕES et al., 2001).

1De acordo com o número de cadeias de isopreno presentes, os terpenos são classificados

como: C5 hemiterpenos, C10 monoterpenos, C15 sesquiterpenos e C20 até C40 diterpenos.

Os terpenos são derivados dos óleos essenciais que é o metabólito secundário responsável pela fragrância das plantas. Quando estes compostos são acrescidos de elementos, usualmente o oxigênio, são denominados terpenóides. Os terpenóides são sintetizados a partir de unidades de acetato, associados a ácidos graxos. Os terpenos se diferem dos ácidos graxos por possuírem cadeias extensas e cíclicas. Terpenos e terpenóides são ativos contra bactérias, fungos, vírus e protozoários. O mecanismo de ação dos terpenos ainda não é totalmente compreendido, mas acredita-se que envolva a destruição dos compostos lipoprotéicos da membrana (SIMÕES et al., 2001).

Dessa maneira se preconiza a prescrição da tintura de bardana em tratamento de infecções buco-faríngeas com flora patógena mista, bloqueando assim sua passagem para os tratos respiratório e digestivo inferiores (ALONSO, 1989; BOWN, 1996).

Actium lappa L. (bardana) vem sendo muito usada na medicina popular por todo o mundo através de várias aplicações terapêuticas. Pela medicina popular a planta tem demonstrado atividade antifúngica e antibacteriana, diurética, anti-oxidante e ansiolítica (PEREIRA et al., 2005).

Em odontologia, a bardana tem sido investigada devido à sua potencial atividade contra microrganismos da cavidade oral, especificamente aqueles associados com infecções endodônticas.

Pereira et al. (2005), avaliaram a eficácia de extratos de *Arctium lappa* L. frente a microrganismos comumente encontrados na cavidade oral como *E. faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*. Segundo estes pesquisadores, a fase hexânica obtida da planta mostrou grande atividade contra estes microrganismos em questão, particularmente contra *E. faecalis*, um germe presente na cavidade oral e que se envolve com o insucesso do tratamento endodôntico.

Gentil et al. (2006), compararam a atividade antimicrobiana da bardana com outros medicamentos utilizados em curativos endodônticos. Neste estudo, 27 dentes caninos superiores foram instrumentados, esterilizados, selados na porção apical e inoculados com uma suspensão bacteriana mista constituída de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*. Um curativo com pasta de hidróxido de cálcio em propilenoglicol, um curativo com extrato propilenoglicólico de bardana e um curativo só com propilenoglicol (controle) foram utilizados e avaliados após 7, 14 e 30 dias. *Arctium lappa* L. inibiu o crescimento de toda microbiota contaminante em 14 e 30 dias.

Outra opção de uso poderia ser o extrato alcoólico e infusão da *Casearia Silvestris* Swart, popularmente conhecida como guaçatonga.

1.3 *Casearia sylvestris* Swart

É uma planta originária da América Latina desde o México até a Argentina. No Brasil é encontrada em abundância, sendo uma espécie muito comum no estado de São Paulo. É conhecida por diversas sinonímias populares devido a sua ampla distribuição pelo país: guaçatonga, erva de lagarto, vassitonga, bugre-branco, dentre outros. Mais conhecida popularmente como guaçatonga, palavra de origem do tupi guarani comprovando que a espécie já era de conhecimento dos índios (ERVA-DO-SÍTIO, 2006; TESKE; TRENTINI, 2001).

A planta é arbórea e perene, com altura variando de dois a seis metros, mas pode atingir até vinte metros. Possui tronco tortuoso, casca de coloração acinzentada a acastanhada, rugosa e com pequenas fendas superficiais (ERVA-DO-SÍTIO, 2006; SILVA JUNIOR., 1997; JASZCZERSKI, 1987; TORRES; YAMAMOTO, 1986; CORREA, 1984; KLEIN; SLEUMER, 1984; ABSY; SCAVONE, 1973).

As folhas são alternas lanceoladas até ovaladas ou elípticas, dispostas no mesmo plano do ramo, alternadamente. Possui entre seis e quatorze centímetros de comprimento por três a cinco centímetros de largura. É assimétrica na base e apresenta de cinco a oito nervuras laterais. São brilhantes e dotadas de pequenas glândulas de óleo, visíveis contra a luz (ERVA-DO-SÍTIO, 2006; SILVA JUNIOR, 1997; JASZCZERSKI, 1987; TORRES; YAMAMOTO, 1986; CORREA, 1984; KLEIN; SLEUMER, 1984; ABSY; SCAVONE, 1973).

As flores são numerosas, pequenas, branco-esverdeadas ou amarelas, estão dispostas em cimeiras axilares e exalam um forte aroma. Já o fruto é uma cápsula ovóide-globulosa, pequena, vermelha quando madura, contendo de duas a seis sementes em arilo lanoso, amarelo comestível (ERVA-DO-SÍTIO, 2006; SILVA JUNIOR., 1997; JASZCZERSKI, 1987; TORRES; YAMAMOTO, 1986; CORREA, 1984; KLEIN; SLEUMER, 1984; ABSY; SCAVONE, 1973).

E possui ação cicatrizante, anti-séptica, antimicrobiana e fungicida, justificando a marcante porcentagem de óleo essencial; antiulcera reduzindo o volume de ácido clorídrico; diurética ativando a circulação periférica e estimulando o metabolismo cutâneo e conseqüente tonificação local; taninos formando revestimento protetor na pele e nas mucosas dificultando infecções (TESKE; TRENTINI, 2001).

Em relação à sua constituição química, encontramos óleos essenciais; saponinas; ácidos graxos; taninos; antocianosídeo; resinas; e flavonóides. Desta forma alguns componentes químicos em especial poderão ter ação direta sobre o microrganismo em questão, sendo ele taninos, flavonóides e óleos essenciais.

1.3.1 Taninos

Os taninos distribuem-se por toda a planta, em todas as regiões e tecidos, particularmente do córtex, floema e raios medulares, aparecem também solubilizados no suco dos vacúolos sob a forma de combinações complexas. Sendo essas substâncias fenólicas solúveis em água com massa molecular entre 500 e cerca de 3000 Daltons, são capazes de formar complexos insolúveis em água quando combinados com alcalóides, gelatina e outras proteínas, são importantes, pois são responsáveis pela adstringência de muitos frutos e outros produtos vegetais (SIMÕES et al., 2001).

São classificados, segundo sua estrutura química, em dois grupos: Taninos hidrolisáveis e taninos condensados (SIMÕES et al., 2001).

Acredita-se que as propriedades farmacológicas dos taninos esta relacionada a três características gerais comuns em maior ou menor grau aos dois grupos, essas características são: complexação com íons metálicos como: Ferro (Fe), Manganês (Mn), Cobre (Cu), Alumínio (Al), entre outros; atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres; habilidade de complexar com outras moléculas, incluindo macromoléculas como proteínas e polissacarídeos (SIMÕES et al., 2001).

1.3.2 Flavonóides

Os flavonóides foram biosintetizados a partir dos fenilpropanóides, e constituem uma importante classe de polifenóis presentes em abundância entre os metabólitos secundários de vegetais, essa classe de compostos é amplamente distribuída no reino vegetal, alguns representantes em briófitas, existindo apenas um relato em fungos, em pteridófitas também foram encontrados, porém sua variedade estrutural é pequena, entretanto encontram-se presente em abundâncias nas angiospermas, nesse grupo apresenta grande diversidade estrutural, já nas algas esse composto é quase ausente. São funções atribuídas aos flavonóides nas plantas: proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioleta, além de proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias; atraentes de animais com finalidade de polinização;

antioxidantes; controle da ação de hormônios vegetais; agentes alelopáticos; e inibição de enzimas (CASAMADA, 1968).

1.3.3 Óleos Essenciais

Os terpenos são originados da via do acetato-mevalonato a partir de uma unidade isopreno. A classificação dos terpenos é feita de acordo com a quantidade de unidades isopreno em hemiterpenóides, C₅; monoterpenóides, C₁₀; sesquiterpenóides, C₁₅; diterpenóides, C₂₀; triterpenóides, C₃₀; e carotenóides, C₄₀. Apresentando diversas funções nos vegetais, os monoterpenos atuam na atração de polinizadores, pois são constituintes dos óleos essenciais (óleos voláteis) (CASAMADA, 1968).

Os triterpenos e seus derivados, os esteróides, apresentam uma gama de funções. Muitos têm funções de proteção contra herbívoros, alguns são antimitóticos, e outros atuam na germinação das sementes e na inibição do crescimento da raiz (VICKERY; VICKERY, 1981; HARBONE; BAXTER, 1995).

Portanto, diante da necessidade de busca constante de substâncias que apresentem boa capacidade anti-séptica e obtidas à partir de fontes naturais, com menor toxicidade para serem utilizadas na terapia odontológica e endodôntica, isoladamente ou associadas ao hidróxido de cálcio, torna-se oportuno e pertinente testar os extratos de *Arctium lappa* L. e *Casearia silvestris* S. em diferentes veículos quanto a sua ação anti-séptica.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

A presente pesquisa teve como objetivo geral comparar o poder antimicrobiano dos extratos aquosos, alcoólicos, propilenoglicólicos e da infusão da *Arctium lappa* L. (bardana) e da *Casearia silvestris* Sw. (guaçatonga) através de teste de susceptibilidade antimicrobiana de linhagens de *E. faecalis* isoladas e identificadas a partir da cavidade oral, pelo método da difusão radial em placa de ágar Mueller-Hinton.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- testar a susceptibilidade antimicrobiana de linhagens de *E. faecalis* isoladas da cavidade oral pelo método da difusão radial em placa de ágar Mueller-Hinton frente aos extratos e infusão da *Arctium lappa* L.
- testar a susceptibilidade antimicrobiana de linhagens de *E. faecalis* isoladas da cavidade oral pelo método da difusão radial em placa de ágar Mueller-Hinton frente aos extratos e infusão da *Casearia silvestris* Sw.
- comparar estatisticamente a ação antimicrobiana de ambas as plantas frente as linhagens de *E. faecalis*.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 COLETA DA PLANTA *Arctium lappa* L. E PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS E INFUSÃO

As folhas de *Arctium lappa* L. que foram utilizadas neste trabalho foram coletadas na Coordenadoria de Assistência Técnica Integra (CATI), localizado na Av. Rodrigues Alves, s/n – Bauru-SP e identificadas no herbário da Universidade Sagrado Coração Bauru (USC).

Depois de coletado e submetido a processo de dessecação anatômica, o material foi seco até peso constante, em estufa de ar circulante a temperatura controlada, triturado em moinho de facas e a seguir os extratos foram obtidos, para posterior análise do melhor rendimento na extração do princípio ativo da bardana. A avaliação qualitativa e quantitativa dos compostos já isolados da bardana, foram feitas por cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) que foi realizada no laboratório de Toxicologia Analítica da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – UNESP, campus de Bauru.

Os extratos de *Arctium lappa* L. foram preparados de quatro formas diferentes conforme descrito a seguir:

O extrato aquoso (I) foi obtido com 2 gramas da planta pulverizada misturadas a 180 mL de água destilada e aquecido por até 50°C, para que não se perdesse nenhum princípio ativo desta planta. Um dos extratos alcoólico (II) foi preparado com a utilização 1 grama da planta pulverizada para cada 15 mL de álcool etílico a 70% o mesmo foi aquecido durante 2 minutos, após este processo ele foi lavado com carvão ativo para que retirasse os resíduos de clorofila (SILVA et al., 1986).

A terceira forma de extrato (III) foi preparada pelo método da maceração com utilização de propilenoglicol (solução extratora), onde a proporção de pó da planta foi de 25 gramas para cada 200 mL de solução extratora. Essa solução extratora permaneceu em contato com o pó por 8 dias e sofreu agitação esporádica, ao longo destes dias esse processo ocorreu em frasco de vidro âmbar para que evitasse uma possível interferência da luz e a temperatura ambiente aproximadamente 25°C (SIMÕES et al., 2001)

Para a infusão (IV) foram aquecidos 200 mL de água destilada até a ebulição. Vertesse todo o conteúdo sobre 25 gramas da planta pulverizada, deixando em contato por 20 minutos, controlando a temperatura em torno de 50°C através do banho-maria. No total foram testados quatro tipos de extratos. (SIMÕES et al., 2001)

3.2 COLETA DA PLANTA *Casearia sylvestris* SW. E PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS E INFUSÃO

As folhas de *Casearia sylvestris* Sw. que foram utilizadas neste trabalho foram coletadas no campus da fazenda lageado, da Faculdade de Ciências Agronômicas (FCA) - UNESP de Botucatu – SP e identificadas no herbário da USC-Bauru.

Depois de coletado e submetido a processo de dessecação anatômica, o material foi seco até peso constante, em estufa de ar circulante a temperatura controlada, triturado em moinho de facas e usado na preparação de extratos e infusão.

O extrato aquoso a quente (I) foi obtido com 180ml de água destilada em 25 gramas da planta e também foi realizado um controle de temperatura em até 50°C, para que não se perdesse nenhum princípio ativo desta planta. O extrato alcoólico (II) foi preparado com a utilização 1grama do pó para cada 15 mL de álcool etílico a 70% o mesmo foi aquecido durante 2 minutos, após este processo foi lavado com carvão ativo para que se retirasse os resíduos de clorofila (SILVA et al., 1986).

A terceira forma de extrato (III) foi preparada pelo método da maceração com utilização de propilenoglicol (solução extratora), onde a proporção de pó da planta foi de 25 gramas para cada 200 mL de solução extratora. Essa solução extratora permaneceu em contato com o pó por 8 dias e sofreu agitação esporádica, ao longo destes dias esse processo ocorreu em um frasco de vidro âmbar para que evitasse uma possível interferência da luz e a temperatura ambiente aproximadamente 25°C (SIMÕES et al., 2001)

A infusão (IV) foi obtida a partir da mistura de água destilada com o pó da planta já triturada, na proporção de 200ml de água para 25gramas da planta. Este processo foi realizado em banho-maria para um controle da temperatura em torno de 50°C evitando a perda de componentes químicos da planta, que foi estudado. Já que algumas literaturas ressaltam que os flavonóides são voláteis a temperaturas elevadas (superior a 55°C). (SIMÕES et al., 2001)

3.3 LINHAGENS BACTERIANAS

Para o desenvolvimento do presente trabalho, foram avaliadas 50 estirpes de *E. faecalis* recuperadas da cavidade oral de pacientes atendidos no serviço de Endodontia da Clínica de Odontologia, Bauru-SP, que foram mantidas e conservadas em bacterioteca no

Laboratório de Microbiologia da USC.

3.4 MÉTODO DA DIFUSÃO DOS EXTRATOS DA BARDANA E GUAÇATONGA A PARTIR DE DISCOS IMPREGNADOS

As estirpes isoladas foram submetidas ao teste de sensibilidade antimicrobiana aos extratos da bardana e guaçatonga pelo método da difusão da droga a partir de discos impregnados sobre a superfície do ágar, de acordo com as normas estipuladas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI/NCCLS, 2005).

Para o procedimento desse método, foram transferidas das placas de subcultura pura de cada estirpe isolada, cinco colônias para um tubo contendo 4ml de caldo BHI Oxoid®. Em seguida o tubo foi incubado a 36°C por oito horas e, a partir dessa suspensão bacteriana, preparou-se o ajuste para a densidade ótica do padrão de turbidez 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias por mL – UFC/mL). Uma vez ajustada a densidade do inóculo, a semeadura foi feita através de zaragatoa de algodão estéril sobre a superfície do meio Mueller-Hinton Agar (Oxoid®) contido em placas de Petri de 15x150mm. Procedido o inóculo, as placas foram mantidas em estufa a 36°C por uma hora para secagem da superfície do meio de cultura e, após este procedimento, foram aplicados com pinça estéril os discos de papel de alta espessura contendo cada extrato da bardana e da guaçatonga e suas respectivas infusões. Após a incubação das placas a 36°C por 24 horas completas, a atividade antimicrobiana foi avaliada medindo-se os halos de inibição em milímetros. Todo o experimento foi realizado em triplicata (CLSI/NCCLS, 2005).

No sentido de avaliar a qualidade dos resultados alcançados, foi determinada em cada estudo a sensibilidade antimicrobiana de uma linhagem de referência: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

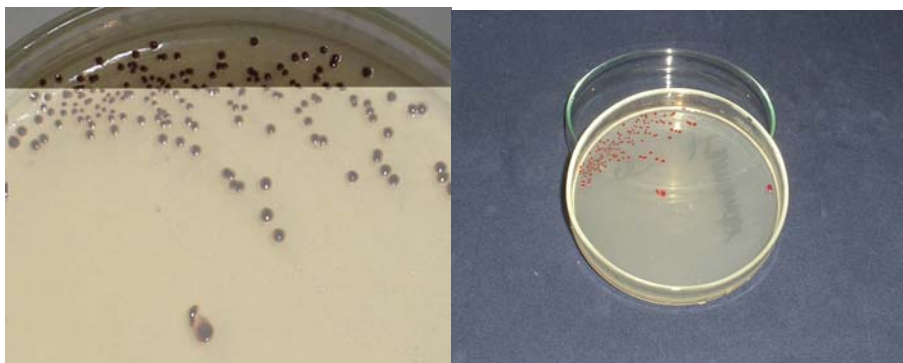


Figura 1 – Subculturas puras de *E. faecalis*, sob ângulos diferentes.
Fonte: Elaboração própria



Figura 2 – Tubos de *E. faecalis*¹.
Fonte: Elaboração própria

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as variáveis em estudo, elaborou-se figuras e valores estatísticos para caracterizar a sensibilidade ou resistência dos germes frente aos extratos e infusão utilizados. Os dados relativos à distribuição percentual de linhagens sensíveis frente aos vários extratos e infusão foram analisados, estatisticamente, através do teste de Goodman (CURI, 1998).

4 RESULTADOS

Foram testadas 50 estirpes de *E. faecalis* isoladas da cavidade oral frente aos extratos propileglicólico, alcoólico, aquoso e infusão da Guaçatonga e Bardana. No método de difusão dos extratos e infusões da *Casearia sylvestris* Sw. em ágar a partir de discos impregnados frente a 50 linhagens de *E. faecalis* (Tabela 1), observamos que o extrato obtido a partir de propilenoglicol demonstrou melhor eficiência, inibindo 35 (68,6%) das estirpes estudadas com variação de 0-7mm e média de 4,3mm. As outras soluções extratoras, tais como alcoólicas, inibiram uma média de 11 (21,6%) das estirpes estudadas com halos de inibição que variaram de 0-10mm com uma média de 1,4mm e aquosas inibiram uma média de 16 (31,4%) das estirpes estudadas e tiveram uma variação de 0-8 mm com uma média de 2,1mm. (Tabela 1). Observa-se também que frente à infusão todas as linhagens (100%) demonstraram resistência.

Diante dos resultados tidos com os extratos e infusão da *Arctim lappa* L., conclui-se que estes não apresentam atividade antimicrobiana contra *E. faecalis* (Tabela 2).

TABELA 1 - Sensibilidade *in vitro* de 50 estirpes de *E. faecalis* frente aos extratos e a infusão de *Casearia sylvestris* Sw. (mm)

VEÍCULOS	Varição (mm)	Média (mm)	(%)
Álcool Etílico	0-10	1,4	21,6
Propilenoglicol	0-7	4,3	68,6
Aquoso	0-8	2,1	31,4
Infusão	0-0	0,0	0,00

Fonte: Elaboração própria.

Os extratos e infusão da guaçatonga foram, portanto, eficientes, estatisticamente significantes, em relação aos extratos e infusão da bardana ($p < 0,05$).

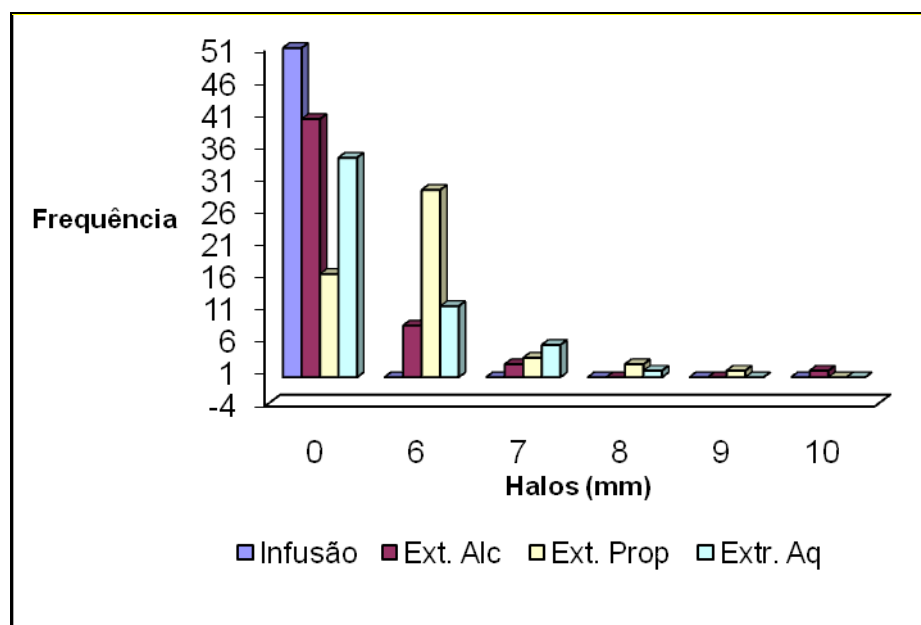


Gráfico 1 - Sensibilidade *in vitro* de 50 estirpes de *E. faecalis* frente aos extratos de *Casearia sylvestris* Sw. e a Infusão.

Fonte: Elaboração própria.

TABELA 2 - Sensibilidade *in vitro* de 50 estirpes de *E. faecalis* frente aos extratos infusão de *Arctium lappa* L. (mm)

VEÍCULOS	Variação (mm)	Média (mm)	(%)
Álcool Etílico	0-0	0,0	0,00
Propilenoglicol	0-0	0,0	0,00
Aquoso	0-0	0,0	0,00
Infusão	0-0	0,0	0,00

Fonte: Elaboração própria.

5 DISCUSSÃO

O *Enterococcus faecalis* é uma bactéria que está envolvida em vários processos patológicos, desde uma simples infecção urinária até outros de maior complexidade como as endocardites bacterianas, dentre outras.

Sua real importância em Odontologia ainda é amplamente discutida. Alguns estudos têm demonstrado seu envolvimento em processos endodônticos variados, como por exemplo, as periodontites apicais e as infecções endodônticas persistentes (RÔÇAS et al., 2004).

Estudos demonstram também que, um grande sucesso da terapia endodôntica somente é conseguido quando o canal radicular está livre de microrganismos no momento da obturação.

Várias estratégias de tratamento têm sido empregadas pelos cirurgiões dentistas a fim de efetivamente manter desinfetado o canal radicular. Entre elas podemos citar o reparo biomecânico (instrumentação e irrigação) e o uso de medicação intracanal. Estas substâncias são utilizadas com a finalidade de eliminarem os micróbios no momento do tratamento. Entre elas podemos citar o uso de hidróxido de cálcio, hipoclorito de sódio, entre outras.

O hipoclorito de sódio tem sido utilizado como substância clássica irrigatória, embora estudos revelem que linhagens específicas de *E. faecalis* resistam à exposição frente ao hipoclorito de sódio em diferentes concentrações (RADCLIFFE et al., 2004).

E. faecalis também tem sido isolado de canais radiculares que já foram submetidos ao tratamento com pastas de hidróxido de cálcio, demonstrando assim, uma provável resistência do germe para este tipo de curativo endodôntico (DAHLÉN et al., 2000).

O mecanismo de resistência tem sido atribuído a uma bomba de próton ativa deste microrganismo (EVANS et al., 2002).

Compostos naturais também têm sido testados frente a linhagens de bactérias isoladas da cavidade oral, a fim de se avaliar suas propriedades antimicrobianas.

Nosso estudo avaliou a atividade antimicrobiana de extratos e infusão de *Casearia sylvestris* Sw. (guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral de pacientes da clínica de endodontia da USC, comparando-se ao efeito antimicrobiano de antibióticos de uso clínico em odontologia e *Arctium lappa* L.(bardana).

Ao avaliar a eficácia dos extratos e da infusão de *Arctium lappa* L.(bardana) frente ao *Enterococcus faecalis*, microrganismos comumente encontrados na cavidade oral, estes não demonstraram atividade antimicrobiana.

O extrato obtido a partir do propilenoglicol com *Casearia sylvestris* Sw. mostrou-se mais eficiente sobre as linhagens estudadas. Este resultado corrobora os estudos de Schneider

et al., (2006), onde a atividade antimicrobiana de óleos voláteis de guaçatonga foi demonstrada sobre bactérias Gram positivas como *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*. Atividade antimicrobiana do extrato de guaçatonga contra Gram positivo foi também demonstrada por Alves et al., (2000), inibindo estirpes de *Bacillus cereus*. Tratando-se ser *E. faecalis* um germe Gram positivo, nosso estudo contraria os resultados obtidos por Gonçalves et al., (2005), que não obtiveram atividade antimicrobiana de extrato alcoólico de guaçatonga frente à linhagens de germes Gram positivos.

6 CONCLUSÕES

Frente aos experimentos realizados e as observações técnicas avaliadas, parece lícito concluirmos que:

- Dentre os extratos e a infusão de guaçatonga empregados no presente estudo, o de propilenoglicol apresentou-se com maior eficiência sobre as linhagens de *E. faecalis* isoladas da cavidade oral.
- Dentre os extratos e infusão de bardana testados no presente estudo, não apresentaram eficiência sobre as linhagens de *E. faecalis* isoladas da cavidade oral.

REFERÊNCIAS

ABSY, M. L.; SCAVONE, O. Sobre a morfologia e anatomia *Casearia syvestris* Sw. **Bot. Zool. e Biol.**, São Paulo, n. 30, p. 641-676, 1973.

ALONSO, J. R.; **Tratado de Fitomedicina**: bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: Isis, 1989.

ALVES, T. M. A. et al. Biological screening of brazilian medicinal plants. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 3, p. 367-73, 2000.

BOWN, D. **Enciclopédia de las hierbas y sus usos**. Barcelona: Grijalbo-Mondadori, 1996.

CASAMADA, R. S. M. **Farmacognosia con farmacodinamia**. Barcelona: Cientifico Medica, 1968.

CORREA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Nacional, 1984. v. 3.

CURI, P. R. **Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas**. 1.ed. Botucatu, Tipomic, 1998. 263 p.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI)/NCCLS. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; aproved standard**. 8. ed. M2-A8. Pennsylvania, USA, 2005.

DAHLÉN, G. et al. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from the root canal. **Oral Microbiol Immunol.**, Copenhagen, v. 15, n. 5, p. 309-312, 2000.

ERVA-DO-SÍTIO. Guaçatonga. Disponível em: <<http://www.ervadositio.com.br>>. Acesso em: 20 abr. 2006.

ESTRELA, C. et al. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and chlorhexidine tested by different methods. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 1, p. 59-62, 2003.

ESTRELA, C. et al. Effe of velhice on antimicrobial properties of calcium hidroxide pastes. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v.10, p.69-72, 1999.

EVANS, M. et al. Mechanism involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. **Int. Endod. J.**, Oxford, v. 35, n. 3, p. 221-228, mar. 2002.

FABRÍCIUS, L. et al. Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. **Scand. J. Dent. Res.**, Göteborg, v. 90, p. 200-206, 1982.

GENTIL, M. et al. In vitro evaluation of the antibacterial activity of *Arctium lappa* as a phytotherapeutic agent used in intracanal dressings. **Phytoterapy research. Res.**, Ribeirão Preto, v. 20, p. 184-186, 2006.

GONÇALVES, A. L. et al. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arq. Inst. Biol.**, Rio Claro, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.

HARBONE, J. B.; BAXTER, H. **Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants**. London: Taylor & Francis, 1995.

JASZCZERSKI, J. C. **Flacourtiaceae D. C. de Estado do Paraná**. 1987. Mestrado (Dissertação em Botânica) - Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

KAYAOGLU, G.; ORSTAVIK, D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. **Crit. Rev. Oral. Biol. Med**, v. 15, n. 5, p. 308-320, 2004.

KLEIN, R. M.; SLEUMER, H. O. Flacourtiaceae. In: REITZ, R. **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: UNIVALI, 1984. 96 p.

KONEMAN, E. W. et al. **Diagnóstico microbiológico : texto e atlas colorido**. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. 1465 p.

MURRAY, P. R. et al. **Medical microbiology**. 3. ed. St. Louis: Mosby-Year Book Inc., 1998. 719 p.

PEREIRA, J. V. et al. Antimicrobial Activity of *Arctium lappa*: constituents against microorganisms commonly found in endodontic infections. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v. 16, n. 3, p. 192-196, set./dez. 2005.

RADCLIFFE, C. E. et al. Antimicrobial activity of varying concentrations of sodium hypochlorite on the endodontic microorganisms *Actinomyces israelii*, *A. naeslundii*, *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*. **Internacional Endodontic Journal**, Manchester, v. 37, n. 7, p. 438-446, Jul. 2004.

RÔÇAS et al. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. **J. Endod.**, Baltimore, v. 30, n. 5, p. 315-320, May 2004.

SCHNEIDER, N. F. Z. et al. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de *Casearia sylvestris* Swart. **Rev. Bras. Farm.**, Lajeado, v. 87, n. 4, p. 112-114, 2006.

SILVA JUNIOR, A. A. **Plantas medicinais e aromáticas**. Itajaí: Governo de Santa Catarina/S.A.D.R./ E.C.P.A.E.R.- SC, 1997.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.

TANOMARU FILHO, M. **Reparo apical e periapical após tratamento endodôntico em dentes com reação periapical crônica em função da solução irrigadora e do curativo de demora. Estudo em cães. Diferentes soluções irrigadoras Estudo em camundongos**. Araraquara 2001. 333f. Tese (livre-docência) - Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

TESKE, M.; TRENTIN, A. M. M. **Compêndio de fitoterapia**. 4. ed. Curitiba: Editora Herbarium, 2001.

TORRES, R. B.; YAMAMOTO, K. Taxonomia das espécies de *Casearia* jacq. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 9, p. 239-258, 1986.

VAHDAT, A.; PITT FORD, T. R.; WILSON, R. F. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. **Endod. Dent. Traumatol**, London, v. 9, n. 6, p. 243-248, 1993.

VICKERY, M. L.; VICKERY, B. **Secondary plant metabolism**. Hong Kong: The Macmillan Press, 1981.

WEIGER, R. et al. Microbial flora of sinus tracts and root canals of non-vital teeth. **Endod. Dent. Traumatol.**, Tübingen, v. 11, p. 15-19, 1995.

YAMASHITA, J. C. et al. Scanning electron microscopic study of the cleaning ability of chlorhexidine as a root canal irrigant. **Int. Endod. J. Oxford.**, Araraquara, v. 36, n. 6, p. 391-394, Jun. 2003.

YESILSOY, C. et al. Antimicrobial and toxic effects of established and potential root canal irrigants. **J. Endod.**, Baltimore, v. 21, n. 10, p. 513-515, Oct. 1995.