

COMPARAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE DIFERENTES ANTIBIÓTICOS E EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS E INFUSÃO DE *CASEARIA SYLVESTRIS* SWART (GUAÇATONGA) FRENTE A LINHAGENS DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* ISOLADOS DA CAVIDADE ORAL

Paulo Henrique Weckwerth¹

Fernando dos Santos²

Marco Antonio Húngaro Duarte³

Rodrigo Ricci Vivan⁴

Ana Carolina Villas Bôas Weckwerth⁵

¹Professor das disciplinas de Microbiologia e Bacteriologia Clínica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Sagrado Coração – USC

²Farmacêutico-Bioquímico graduado pela Universidade Sagrado Coração – USC

³Professor do departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB – USP

⁴Doutorando em Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

⁵Pesquisador Científico do Instituto Lauro de Souza Lima – Bauru – São Paulo.

Recebido em: 18/01/2010

Aceito em: 20/02/2010

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

RESUMO

Enterococcus faecalis são cocos Gram positivos, elipsóides, em cadeias curtas, anaeróbios facultativos, habitantes dos tratos intestinal e genital e da cavidade oral de humanos e animais. Podem causar uma gama muito grande de doenças no homem como cistite, endocardite e infecções de feridas. Os enterococos têm sido implicados também 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, este estudo comparou a atividade antimicrobiana de extratos alcoólicos e aquoso da *Casearia sylvestris* Sw (Guaçatonga) com a atividade antimicrobiana da amoxicilina, azitromicina, vancomicina, penicilina, clindamicina, cloranfenicol e da clorexidina frente a 50 linhagens de *E. faecalis* isolados da cavidade oral de pacientes da Clínica de Endodontia da USC. Os testes foram realizados pelo método de difusão das drogas a partir de discos impregnados com as substâncias sobre a superfície de placas de ágar Mueller-Hinton. A droga de melhor eficiência foi amoxicilina com 100% das linhagens sensíveis, estatisticamente significativo ($p < 0,05$) quando comparadas às outras drogas. A droga de menor eficiência foi a clindamicina com 94% de linhagens resistentes. Dos extratos obtidos da planta, o extrato propilenoglicólico mostrou melhor eficiência, inibindo 34 (68%) das estirpes (média de 4,31mm de halo de inibição). A clorexidina inibiu 100% das estirpes (média de 17,09mm de halo de inibição) (CNPq).

Palavras-chave: *Enterococcus faecalis*, *Casearia sylvestris*, microbiologia oral, endodontia, antibióticos, clorexidina.

INTRODUÇÃO

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 & ØRSTAVICK, 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 ágar 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

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

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 inflamatória durante o processo infeccioso (KAYAOGLU & ØRSTAVICK, 2004).

O ácido lipoteicoico é, além de adesina, um importante fator de virulência por induzir a produção do fator de necrose tumoral (TNF), modulando de forma agressiva a resposta imune. Produzem várias enzimas extracelulares como gelatinase e hialuronidase (KAYAOGLU & ØRSTAVICK, 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 sozinha 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 tratamento endodôntico (FABRICIUS et. al., 1982)

O *E. faecalis* está presente em canais radiculares não tratados endodônticamente e quando presente usualmente compõe uma pequena porção da microbiota do canal radicular. O *E. 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 (WEIGTER et al., 1995).

A clorexidina tem sido amplamente sugerida como material para antissepsia de canais radiculares entre sessões por possuir 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 (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 cres-

cimento bacteriano. 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.

A *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) é uma planta originária da América Latina, desde do México até a Argentina. No Brasil é encontrada em abundância, sendo uma espécie muito comum no estado de São Paulo. 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, 2001; SILVA Jr., 1997; JASZCZERSKI, 1987; TORRES; YAMAMOTO, 1986; CORREA, 1984; KLEIN et al., 1984; ABSY; SCAVONE, 1973). Suas 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, 2001; SILVA Jr., 1997; JASZCZERSKI, 1987; TORRES; YAMAMOTO, 1986; CORREA, 1984; KLEIN et al., 1984; ABSY; SCAVONE, 1973).

Possui ação cicatrizante, antisséptica, antimicrobiana e fungicida, justificando a marcante porcentagem de óleo essencial; anti-úlceras reduzindo o volume de ácido clorídrico; diurética ativando a circulação periférica e estimulando o metabolismo cutâneo e conseqüente tonificação local; taninos podem formar revestimento protetor na pele e nas mucosas dificultando infecções (TESK; TRENTINI, 2001). Em relação à sua constituição química, são encontrados óleo essencial, saponinas, ácidos graxos, taninos, antocianosídeos, resinas e flavonóides, dentre os quais, alguns poderão ter ação direta sobre o microrganismo em questão.

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 *Casearia sylvestris* Sw.

OBJETIVOS

O objetivo da presente pesquisa foi comparar o poder antimicrobiano da *Casearia sylvestris* Sw em relação à clorexidina e aos antibióticos de uso clínico odontológico.

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

WECKWERTH,
Paulo Henrique et
al. Comparação
da atividade
antimicrobiana *in*
vitro de diferentes
antibióticos
e extratos
hidroalcoólicos
e infusão
de *Casearia*
sylvestris Swart
(Guaçatonga)
frente a linhagens
de *Enterococcus*
faecalis isolados
da cavidade oral.
Salusvita, Bauru,
v. 27, n. 2, p. 259-
274, 2008.

MATERIAL E MÉTODO

Coleta da planta e preparação dos extratos e infusão

As folhas de *Casearia sylvestris* Sw utilizadas neste trabalho foram coletadas no campus da fazenda lageado da FCA - UNESP de Botucatu – SP e identificadas no herbário BAUR – Universidade Sagrado Coração - USC, Bauru – SP.

Após a coleta, os vegetais foram submetidos ao processo de dessecção anatômico até peso constante, em estufa de ar circulante, sob temperatura controlada e triturada em moinho de facas antes de serem usados na preparação de extratos e infusão.

O extrato aquoso a quente foi obtido com 180mL de água destilada em 25 gramas da planta sob controle de temperatura a 50°C, para que não fosse perdido nenhum princípio ativo da planta (SILVA, et al., 1986).

As outras formas de extrato foram preparadas pelo método da maceração com utilização de propilenoglicol, álcool de cereais e álcool etílico (soluções extratoras), onde a proporção de pó da planta foi de 25 gramas para cada 200 mL de solução extratora. Essas soluções extratoras permaneceram em contato com o pó por 8 dias, sob agitação esporádica, em um frasco de vidro âmbar para evitar uma possível interferência da luz e sob temperatura ambiente aproximada de 25°C (SIMÕES, et al., 2001).

Para o desenvolvimento do presente trabalho, foram avaliadas 50 cepas de *E. faecalis* recuperadas da cavidade oral de pacientes atendidos na disciplina de Endodontia da Clínica de Odontologia da Universidade Sagrado Coração - USC, Bauru-SP.

Para coleta das amostras clínicas, utilizou-se uma zaragatoa de algodão estéril, a qual foi friccionada sobre a região lingual, a superfície dos dentes e em regiões de concentração de saliva, sendo posteriormente colocada em tubos contendo 5mL de Thioglycollate Medium – United States Pharmacopea (USP) Oxoid®, para que pudesse ser transportada de forma hermeticamente fechada ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Sagrado Coração.

Após os procedimentos iniciais, as amostras foram prontamente processadas no Laboratório de Microbiologia da USC, através de técnicas de cultura bacteriológica.

O meio de transporte Thioglycollate Medium contendo o material coletado foi homogeneizado em agitador tipo Vortex por 1 minuto e em seguida semeado sobre a superfície de uma placa de M-Enterococcus Agar Difco® pela técnica de esgotamento de inóculo. Após a semeadura as placas foram incubadas sob atmosfera convencional em estufa bacteriológica a 36°C/18-24 horas. Após o período de in-

cubação as placas foram analisadas para a presença de colônias de *E. faecalis*, ou seja, colônias puntiformes exibindo cor vermelho-escura ou arroxeada.

Testes bioquímicos de identificação

Foram utilizados testes bioquímicos para a identificação de *Enterococcus* propostos por Winn Júnior et al. (2008).

Assim, colônias com características de isolamento próprias de *Enterococcus* sobre a superfície do M-Enterococcus agar, foram submetidas aos seguintes testes bioquímicos: produção de catalase, hidrólise da esculina, tolerância ao cloreto de sódio a 6,5%, fermentação do manitol, fermentação da arabinose, fermentação do sorbitol, desaminação da arginina, verificação da motilidade e produção de pigmento. Os resultados dos testes foram interpretados e comparados com características fenotípicas de identificação de *Enterococcus* segundo Winn Júnior et al. (2008).

Substâncias antimicrobianas a serem testadas

Os antibióticos que foram testados obedeceram as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)/NCCLS^A. Assim, testou-se a penicilina, cloranfenicol e vancomicina. Os testes da azitromicina, clindamicina e amoxicilina foram justificados pelo uso clínico destas drogas em Odontologia.

Método da difusão dos antibióticos a partir de discos impregnados

As estirpes isoladas foram submetidas ao teste de sensibilidade antimicrobiana aos antibióticos de uso clínico 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^B.

Para o procedimento desse método, transferiram-se 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 tur-

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

bidez 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ Unidades Formadoras de Colônias por mL – UFC/mL). Uma vez ajustada à 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 contendo cada antimicrobiano. Após a incubação das placas a 36°C por 24 horas completas, a atividade antimicrobiana foi avaliada medindo-se os halos de inibição e estabelecendo-se a interpretação dos dados conforme as normas do (CLSI)/NCCLS^B (Tabela 1).

Tabela 1 – Padrão de interpretação dos halos de inibição bacteriana (mm).

DROGA	Zona de inibição (mm)		
	Resistente	Intermediário	Sensível
AMO (10mg)	≤ 16	–	≥ 17
AZI (15mg)	≤ 13	14 – 17	≥ 18
CLI (2mg)	≤ 15	16 – 18	≥ 19
CLO (30mg)	≤ 12	13 – 17	≥ 18
PEN (10mg)	≤ 14	–	≥ 16
VAN (30mg)	≤ 14	15 – 16	≥ 17

AMO (amoxicilina), AZI (azitromicina), CLI (clindamicina), CLO (cloranfenicol), PEN (penicilina), VAN (vancomicina)

Método da difusão da clorexidina e dos extratos de guaçatonga a partir de discos impregnados

Impregnaram-se discos de papel de filtro de alta espessura com as substâncias clorexidina e os extratos alcoólicos e infusão de guaçatonga. A execução dos testes obedeceu também toda a padronização do teste da difusão do disco sobre a superfície de placas de ágar.

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.

Análise Estatística

Os dados relativos à distribuição percentual de linhagens sensíveis frente às várias drogas testadas foram analisados, estatisticamente, através do teste de Qui-quadrado (CURI, 1998) e do método

de Tukey para comparar a significância dois a dois entre os vários antibióticos, clorexidina e extratos utilizados.

RESULTADOS

Foram analisadas, frente às variáveis propostas no estudo, 50 estirpes de *E. faecalis* recuperadas da cavidade oral de pacientes atendidos no serviço de Endodontia da Clínica de Odontologia da Universidade Sagrado Coração, Bauru-SP.

No método de difusão dos antibióticos em ágar a partir de discos impregnados frente a 50 linhagens de *E. faecalis* (Tabela 2), observamos que as drogas de melhor eficiência foram a amoxicilina e penicilina com 100% e 90% de linhagens sensíveis respectivamente, seguidas pela vancomicina e cloranfenicol com 86% e 48% de linhagens sensíveis, respectivamente. Amoxicilina mostrou-se eficiente quando comparadas a todos os outros antibióticos, estatisticamente significativo ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Observa-se também que frente a azitromicina, 48% das estirpes apresentaram padrão intermediário, seguida pelo cloranfenicol com 44% e vancomicina com 12%. Também, observa-se alto nível de resistência das linhagens frente a clindamicina (94%).

Tabela 2 – Sensibilidade *in vitro* de 50 estirpes de *E. faecalis* frente a seis antibióticos de uso clínico

DROGA	Zona de inibição (mm)							
	Varição	Média	n S	% de S	n I	% de I	n R	% de R
AMO	18 – 34	28,33	50	100	0	0	0	0
AZI	0 – 25	13,5	6	12	24	48	20	40
CLI	0 – 25	2,17	3	6	0	0	47	94
CLO	0 – 27	17,54	24	48	22	44	4	8
PEN	9 – 24	19,27	45	90	0	0	5	10
VAN	11 – 25	18,58	43	86	6	12	1	2

AMO (amoxicilina), AZI (azitromicina), CLI (clindamicina), CLO (cloranfenicol), PEN (penicilina), VAN (vancomicina)

n S - número de estirpes sensíveis, n I - número de estirpes intermediárias, n R - número de estirpes resistentes

% de S – frequência de estirpes sensíveis, % de I – frequência de estirpes intermediárias, % de R – frequência de estirpes resistentes.

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

Tabela 3 – Comparação dois a dois pelo teste de Tukey dos antibióticos testados frente a 50 linhagens de *E. faecalis*

COMPARAÇÃO	INTERPRETAÇÃO
AMO X AZI	S*
AMO X CLO	S*
AMO X CLI	S*
AMO X PEN	S*
AMO X VAN	S*
AZI X CLO	S*
AZI X CLI	S*
AZI X PEN	S*
AZI X VAN	S*
CLO X CLI	S*
CLO X PEN	NS
CLO X VAN	NS
CLI X PEN	S*
CLI X VAN	S*
PEN X VAN	NS

AMO (amoxicilina), AZI (azitromicina), CLI (clindamicina), CLO (cloranfenicol), PEN (penicilina), VAN (vancomicina)

NS – não significante

S* - significante (Teste de Tukey)

p < 0,05

No método de difusão dos extratos da planta em ágar a partir de discos impregnados frente a 50 linhagens de *E. faecalis* (Tabela 4 e 5), observamos que o extrato obtido a partir de propilenoglicol demonstrou melhor eficiência, inibindo 34 (68%) das estirpes estudadas. As outras soluções extratoras inibiram uma média de 14 (28%) das estirpes estudadas (Tabela 4). Observa-se também que frente à clorexidina todas as linhagens demonstraram inibição de crescimento.

Tabela 4 – Sensibilidade *in vitro* de 50 estirpes de *E. faecalis* frente aos extratos de *Casearia sylvestris* Sw. e clorexidina (mm)

EXTRATOS	Zona de inibição (mm)	
	Variação	Média
Álcool Etílico	0-13	2,07
Álcool de Cereais	0-10	1,41
Propilenoglicol	0-9	4,31 (68%) ^a
Aquoso	0-8	2,13
Clorexidina	7-23	17,09 (100%) ^a

^a percentual de inibição das estirpes estudadas

Tabela 5 – Comparação dois a dois pelo teste de Tukey dos extratos de *Casearia sylvestris* Sw. e clorexidina testados frente a 50 linhagens de *E. faecalis*.

COMPARAÇÃO	INTERPRETAÇÃO
ETÍLICO X CEREAIS	NS
ETÍLICO X PROPILENO	S*
ETÍLICO X EXTRATO	NS
ETÍLICO X CLOREXIDINA	S*
CEREAIS X PROPILENO	S*
CEREAIS X EXTRATO	NS
CEREAIS X CLOREXIDINA	S*
PROPILENO X EXTRATO	S*
PROPILENO X CLOREXIDINA	S*
EXTRATO X CLOREXIDINA	S*

NS – não significante

S* - significante (Teste de Tukey)

p < 0,05

DISCUSSÃO

O *E. 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 (RÖÇAS 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 desinfectado o canal radicular. Entre elas podemos citar o tratamento biomecânico e o uso de substâncias irrigatórias intracanal. Estas substâncias são utilizadas como medicamentos com a finalidade de eliminarem os micróbios no momento do tratamento. Entre elas podemos citar o uso de hidróxido de cálcio, da clorexidina, 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,

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

WECKWERTH,
Paulo Henrique et
al. Comparação
da atividade
antimicrobiana *in*
vitro de diferentes
antibióticos
e extratos
hidroalcoólicos
e infusão
de *Casearia*
sylvestris Swart
(Guaçatonga)
frente a linhagens
de *Enterococcus*
faecalis isolados
da cavidade oral.
Salusvita, Bauru,
v. 27, n. 2, p. 259-
274, 2008.

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 prótons ativa deste microrganismo (EVANS et al 2002). Devido a esta resistência, o uso de algumas destas substâncias associadas tem demonstrado efetividade contra linhagens de *E. faecalis* em experimentos com dentes bovinos. Sirén et al. (2004) demonstraram que hidróxido de cálcio combinado com clorexidina ou com solução de iodo-iodeto de potássio mostrou-se efetivo no processo de desinfecção de dentes animais.

A clorexidina tem sido usada na Endodontia, como irrigante endodôntico (FERRAZ et al., 1999; LEONARDO et al., 1999; LIMA et al., 2001; GOMES et al., 2001; ESTRELA et al., 2003). Entretanto, alguns trabalhos não concordam em afirmar que a clorexidina possui melhor ação antibacteriana que o hipoclorito de sódio (RINGEL et al., 1982; SIQUEIRA et al., 1998; AYHAN et al., 1999). Com relação ao efeito antifúngico, tanto o hipoclorito a 1,0% e 5,0% quanto a clorexidina a 0,2% apresentaram resultados semelhantes após o período de uma hora (SEN et al., 1999).

A clorexidina tem demonstrado bom efeito sobre os microrganismos, como observado nos resultados do presente trabalho, em que todas as cepas de *E. faecalis* foram sensíveis.

Devido ao seu amplo espectro de ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sua capacidade de adsorção pelos tecidos dentais e superfície da mucosa, com prolongada liberação gradual em níveis terapêuticos (substantividade), baixa tensão superficial, além de sua biocompatibilidade, são algumas das propriedades que justificam sua utilização clínica.

Quanto a propriedade da substantividade, sua atividade residual foi confirmada em vários estudos. Adere à superfície dentinária, e pode ser encontrada após 48 horas da instrumentação (JEANSONNE; WHITE 1994, WHITE et al., 1997; LEONARDO et al., 1999).

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

Pereira et al. (2005), avaliaram a eficácia de extratos de *Arctium lappa* L.(bardana) 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), avaliaram a atividade antimicrobiana de *Artium lappa* (bardana) frente a 5 linhagens de germes em forma de “pool” inoculados em dentes de experimentação. O extrato vegetal somado ao propilenoglicol mostrou-se efetivo em um grupo de dentes após 14 e 30 dias de exposição.

A descoberta de biocomponentes de plantas com atividade antimicrobiana sobre microbiota bucal, poderá levar à novas terapias ou terapias opcionais ao cirurgião dentista.

Nosso estudo avaliou a atividade antimicrobiana de extratos de *Casearia sylvestris* Sw. (guaçatonga) frente a linhagens de *E. 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 clorexidina.

O extrato obtido a partir do propilenoglicol 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 hidro-alcoólico de guaçatonga frente à linhagens de germes Gram positivos.

A clorexidina mostrou-se eficiente sobre todas as linhagens testadas. Poucas linhagens mostraram-se sensíveis aos outros extratos do vegetal como aqueles obtidos por álcool etílico, de cereais e hidro-alcoólico. Assim, em estudos futuros, a condição de se aprimorar as fórmulas de extração no tocante ao tempo de extração, temperatura e substâncias extratoras, deverão ser observadas.

Pela metodologia proposta, não foi possível quantificar a concentração dos princípios ativos das plantas devido a ausência de um fator padrão da planta. Assim sendo, nesta pesquisa pudemos estimar qualitativamente o poder antimicrobiano da guaçatonga, com ênfase ao extrato obtido a partir do propilenoglicol.

Todas as estirpes mostraram-se sensíveis frente a amoxicilina, corroborando os dados obtidos por Causse et al., (2006) e Hörner et al., (2005).

Noventa e quatro por cento das estirpes apresentaram resistência quando testadas frente a clindamicina, resultado este em concordância com os obtidos por Dahlén et al., (2000).

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

CONCLUSÕES

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

- 1 Amoxicilina apresentou 100% de eficácia frente a linhagens de *E. faecalis* isolados da cavidade oral;
- 2 Penicilina foi o segundo antibiótico com maior eficiência sobre as estripes com 90% de linhagens sensíveis;
- 3 Noventa e quatro por cento das estripes de *E. faecalis* isolados da cavidade oral apresentaram resistência frente a clindamicina;
- 4 Frente a clorexidina, 100% das estripes de *E. faecalis* isolados da cavidade oral, mostram-se sensíveis;
- 5 Dentre os extratos de guaçatonga empregados no presente estudo, o de propilenoglicol apresentou-se com maior eficiência sobre as linhagens de *E. faecalis* isoladas da cavidade oral.

REFERÊNCIAS

- ABSY, M. L.; SCAVONE, O. Sobre a morfologia e anatomia *Casearia sylvestris* Sw. **Bot. Zool. e Biol.**, São Paulo, n. 30, p. 641-676, 1973.
- ALVES, T. M. A. et al. Biological screening of brazilian medicinal plants. **Mem Inst Oswaldo Cruz** v.95 n.3, 367-73, 2000.
- AYHAN, H. et al. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. **Int Endod J**, v.32, p.99-102, 1999.
- CAUSSE, M. et al. Sensibilidad a los antimicrobianos de *Enterococcus faecalis* aislados de pacientes en la provincial de Córdoba (España). **Rev Esp Quimioterap.** V.19 n.2, 140-3, 2006.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)/NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth informational supplement M100-S15. Pennsylvania, USA, 2005. ^A
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)/NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard. 8th ed M2-A8. Pennsylvania, USA, 2005. ^B
- CORREA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro: Nacional, v. 3, p. 514 – 516, 1984.
- CURI, P. R. **Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas.** 1^aed. Botucatu, Tipomic, 1998. 263 p.
- DAHLÉN, G.; SAMUELSSON, W.; MOLANDER, A.; REIT, C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isola-

ted from the root canal. **Oral Microbiol Immunol.** v. 15, p. 309 – 312. 2000.

ERVA-DO-SÍTIO. **Guaçatonga.** Disponível em: <<http://www.ervadositio.com.br>>. Acesso em: 20 abr.2001.

ESTRELA, C.; RIBEIRO, R. G.; ESTRELA, C. R. A.; JESUS, D. P.; SOUSA-NETO, M. D. Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and chlorhexidine tested by different methods. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto. v14, n1, p. 59-62, 2003.

EVANS, M.; DAVIES, J. K.; SUNDQVIST, G.; FIGDOR, D. Mechanism involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. **Int.Endod. J.**, Oxford, v.35, n.3, p.221-8, Mar 2002.

FABRÍCIUS, L.; DAHLÉN, G.; HOLM, S. E.; MÖLLER, A. J. Influence of combinations of oral bacteria on periapical tissues of monkeys. **Scand J Dent Res**, v.90, p.200-206. 1982.

FERRAZ, C. C. R. **Avaliação in vitro do gel de clorexidina usado como irrigante endodôntico.** Piracicaba, 1999. Tese (doutoramento). Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP.

GENTIL, M. et al. *In vitro* evaluation of the antibacterial activity of *Arctium lappa* as a phytotherapeutic agent used in intracanal dressings. **Phytotherapy Research**, v.20, p. 184 – 186. 2006.

GOMES B. P. F. A.; FERRAZ, C. C. R.; VIANNA, M. E.; BERGER, V. B.; TEIXEIRA, F. B.; SOUZA-FILHO, F. J. *In vitro* Antimicrobial activity os several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *E. faecalis*. **Int Endod J**, 34 424-428, 2001.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arq. Inst. Biol.** V.72 n.3, 353-8, 2005.

HÖRNER, R. et al. Suscetibilidade antimicrobiana entre amostras de *Enterococcus* isoladas no Hospital universitário de Santa Maria. **J Bras Patol Med Lab** v.41 n. 6, 391-5, 2005.

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

JEANSONNE, M. J.; WHITE, R. R. A comparison of 2,0% chlorhexidine gluconate and 5,25% sodium hypochlorite as antimicrobial endodontics irrigants. **J Endod**, v.20, n.6, p.276-78, June 1994.

KAYAOGLU, G.; ØRSTAVIK, D. **Virulence factors of Enterococcus faecalis:** Relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med* 15(5):308-20, 2004.

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.

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.

LEONARDO, M. R. et al. In vivo antimicrobial activity of 2,0% chlorexidine used as a root canal irrigating solution. **J Endod**, v.25, n.3, p.167-71, March 1999.

LIMA, K. C.; FAVA, L. R. G.; SIQUEIRA Jr., J.F. Susceptibilities of *Enterococcus faecalis* biofilms to some antimicrobial medications. **J Endod**, v.27, n.10, p.616-19, Oct. 2001.

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

PEREIRA, J. V. Antimicrobial activity of *Arctium lappa* constituents against microorganisms commonly found in endodontic infections. *Braz. Dent. J.* vol.16 no.3 Ribeirão Preto Sept./Dec. 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**. v.37, p.438 – 446. 2006.

RINGEL, A. M. et al In vivo evaluation of chlorexidine gluconate solution and sodium hypochlorite solution as root canal irrigants. **J Endod**, v.8, n.5, p. 200-204, May 1982.

RÔÇAS, I. N.; SIQUEIRA Jr, J. F.; SANTOS, K. R. N. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. **J. Endod.**, Baltimore, v.30, n.5, p.315-20, May 2004.

SCHNEIDER, N. F. Z.; MOURA, N. F.; COLPO, T.; FLACH, A. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de *Casearia sylvestris* Swart. **Rev. Bras. Farm.** V.87 n.4, 112-14, 2006.

SEN, B. H.; SAFAVI, K. E.; SPANGBERG, L. S. W. Antifungal effects of sodium hypochlorite and chlorexidine in root canals. **J Endod**, v.25, n.4, p.235-38, April 1999.

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

SILVA, F. A. et al. Estudos farmacológicos preliminares dos extratos de *Casearia sylvestris*. **Revista Vittale**, Rio Grande, v. 2, p. 57 – 66, 1986.

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.

SIQUEIRA Jr., J. F. et al. Antibacterial effects of endodontic irrigants on black-pigmented gram-negative anaerobes and facultative bacteria. **J Endod**, v.24, n.6, p.414-16, June 1998.

SIRÉN, E. K. et al. *In vitro* antibacterial effect of calcium hydroxide combiner with chlorhexidine or iodine potassium iodide on *Enterococcus faecalis*. **Eur J oral Sci**. v.112, p.326 – 331. 2004.

TESK, 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.

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

WHITE, R. R.; HAYS, G. L.; JANER, L. R. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. **J Endod**, v.23, n.4, p.229-231, April 1997.

WINN Jr., W.C. et al. **Koneman, diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1565p.

WECKWERTH, Paulo Henrique et al. Comparação da atividade antimicrobiana *in vitro* de diferentes antibióticos e extratos hidroalcoólicos e infusão de *Casearia sylvestris* Swart (Guaçatonga) frente a linhagens de *Enterococcus faecalis* isolados da cavidade oral. *Salusvita*, Bauru, v. 27, n. 2, p. 259-274, 2008.