

# Atividade inibitória do verniz de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) sobre amostras de *Streptococcus mutans* "in vitro"

*Inhibitory activity of araçá varnish (*Psidium cattleianum* Sabine)  
on strains of *Streptococcus mutans* "in vitro"*

Actividad inhibidora de barniz de guayaba (*Psidium cattleianum* Sabine)  
sobre muestras de *Streptococcus mutans* "in vitro"

Ellen Cristina Gaetti **JARDIM**<sup>1</sup>  
Elerson Gaetti **JARDIM JÚNIOR**<sup>2</sup>  
Christiane Marie **SCHWEITZER**<sup>3</sup>  
Ana Cláudia **OKAMOTO**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Odontologia Hospitalar, Faculdade de Odontologia - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS),  
Especialista em Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial (CTBMF), Mestre e Especialista em Estomatologia; Mestre e Doutora em CTBMF pela  
Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP - Univ. Estadual Paulista 16015-050, Araçatuba-SP, Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica, Faculdade de Odontologia, UNESP Univ. Estadual Paulista 16015-050, Araçatuba-SP, Brasil  
<sup>3</sup>Departamento de Matemática, Faculdade de Engenharia, UNESP Univ. Universidade Estadual Paulista 15385-000, Ilha Solteira-SP, Brasil

## Resumo

O objetivo desse estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *P. cattleianum* e de um verniz contendo o extrato dessa planta sobre cocos cariogênicos, bem como determinar a velocidade da atividade inibitória de contato do extrato aquoso. Para realização dos testes utilizaram-se 10 isolados clínicos e a cepa de referência *S. mutans* ATCC 35688. O extrato aquoso de araçá foi obtido por decocção de 100g de pó de folhas desidratadas de araçá em 600 mL de água deionizada. O preparo do verniz foi realizado incorporando-se volumes iguais do extrato de araçá e de base composta de resinas naturais e sintéticas. A avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de araçá foi realizada por meio do método de diluição em ágar, enquanto a atividade do verniz com o extrato da planta foi avaliada qualitativamente por meio do método de difusão em ágar. Determinou-se também a ação antimicrobiana de contato do extrato de araçá sobre células microbianas planctônicas. Verificou-se que o extrato de araçá inibiu todos os microrganismos testados, sendo que a incorporação do conteúdo resinoso do verniz não impediu a atividade inibitória. A cinética da ação antimicrobiana evidenciou que o extrato de araçá pode exercer atividade após curto período de tempo de contato. Os resultados permitiram concluir que o extrato aquoso de araçá e a formulação de verniz contendo o extrato dessa planta podem vir a constituir importante instrumento no controle do biofilme cariogênico após a avaliação modelos animais de estudo.

**Descritores:** Agente de Controle de Microrganismos; *Psidium*; *Streptococcus mutans*.

## Abstract

The aim of this study was evaluated the antimicrobial activity of aqueous extract of *P. cattleianum* and a varnish containing the extract of this plant on cariogenic cocos, as well as determine the speed of the inhibitory activity of contact of the aqueous extract. To perform the test it was used 10 clinical isolates and reference strains of *S. mutans* ATCC 35688. The aqueous extract of guava was obtained by decoction of 100g of dried powder of guava leaves in 600 ml of deionized water. The preparation of the varnish was performed incorporating equal volumes of guava extract and base composed of natural and synthetic resins. Evaluation of the antimicrobial activity of guava extract was performed by the agar dilution method, while the varnish activity with the plant extract was qualitatively evaluated using the agar diffusion method. It also determined the antimicrobial action contact of guava extract on planktonic microbial cells. It was verified that the guava extract inhibited all tested microorganisms, and the incorporation of varnish resin content of not block the inhibitory activity. The kinetics of antimicrobial activity evidenced that the guava extract can exert activity after short contact time period. The results allowed to colclude that the aqueous extract of guava and varnish formulation containing the extract of this plant can turn out to be an important tool in the control of cariogenic biofilm after evaluation study of animal models.

**Descriptors:** Control Agents for Microorganisms; *Psidium*; *Streptococcus mutans*.

## Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana de extracto acuoso de *P. cattleianum* y un barniz que contiene el extracto de esta planta en cocos cariogénicos, así como determinar la velocidad de la actividad inhibidora de contacto del extracto acuoso. Para realizar la prueba se utilizó 10 aislados clínicos y cepa de referencia de *S. mutans* ATCC 35688. El extracto acuoso de guayaba se obtuvo mediante decocción de 100 g de polvo seco de hojas de guayaba en 600 ml de agua desionizada. La preparación del barniz se realizó la incorporación de volúmenes iguales de extracto de guayaba y una base compuesta de resinas naturales y sintéticas. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extracto de guayaba se realizó por el método de dilución en agar, mientras que la actividad de barniz con el extracto de la planta se evaluó cualitativamente mediante el método de difusión en agar. También determina la acción antimicrobiana de contacto de guayaba extracto de células microbianas planctónicas. Se encontró que el extracto de guayaba inhibe todos los microorganismos probados, y la incorporación de contenido de resina de barniz no detener la actividad inhibidora. La cinética de la actividad antimicrobiana demostraron que el extracto de guayaba puede ejercer la actividad después de un periodo corto tiempo de contacto. Los resultados mostraron que el extracto acuoso de la formulación de guayaba y barniz que contienen el extracto de esta planta puede llegar a ser una herramienta importante en el control del biofilm cariogénico después de estudio de evaluación de modelos animales.

**Descriptores:** Agentes de Control de Microorganismos; *Psidium*; *Streptococcus mutans*.

## INTRODUÇÃO

A cárie dentária possui natureza multifatorial, em que a destruição das estruturas dentais depende da perda do equilíbrio entre os fenômenos de remineralização e remineralização em função do metabolismo microbiano, notadamente o catabolismo de carboidratos que leva à acidificação do biofilme e do próprio ambiente bucal<sup>1</sup>, permitindo um aumento ainda mais pronunciado nas populações de estreptococos cariogênicos<sup>2</sup>.

A patogênese dessa doença está diretamente associada à liberação de ácidos orgânicos, particularmente ácido láctico, por microrganismos acidogênicos e acidúricos produtores de polímeros intra e extracelulares de carboidratos, como *Streptococcus mutans*, levando à destruição das estruturas dentais adjacentes<sup>3,4</sup>. Diferentes fatores parecem interferir nessa interação microrganismo/hospedeiro no desenvolvimento da cárie, como o fluxo salivar, o pH do biofilme, bem como a composição de dieta<sup>2</sup>, que formam uma verdadeira rede de impulsos e respostas fisiológicas microbianas, além da predisposição do indivíduo ao processo carioso<sup>5</sup>.

Dentro da dinâmica anfibiônica que se estabelece entre os membros do biofilme bucal e o hospedeiro, a presença de desequilíbrios na dieta, com amplo consumo de carboidratos incorporáveis ao metabolismo sacarolítico microbiano, é fator de grande relevância no desenvolvimento de um biofilme altamente cariogênico<sup>6</sup>, onde as populações de cocos cariogênicos aumentam significativamente<sup>7</sup>, afetando sobremaneira o risco a cárie dos indivíduos acometidos<sup>8,9</sup>, particularmente em populações que não recebem atenção odontológica precoce<sup>10</sup>.

Nas últimas décadas, com a intensificação de abordagens preventivas da cárie dentária, observou-se uma nítida redução da grande maioria dos indicadores que compõem o índice CPOD, mas ficou claro a existência de grupos de polarização da enfermidade, onde um número pequeno de indivíduos concentra grande parte das lesões de cárie e se mostra à margem da maioria das medidas preventivas instituídas<sup>11</sup> e esse é um fenômeno mundial<sup>12</sup>.

Em alguns grupos étnicos e comunidades tradicionais existe o costume de considerar a utilização de plantas medicinais como recursos farmacológicos eficientes no tratamento de diferentes enfermidades bucais. Essa postura quase sempre se baseia na tradição popular e negligencia os possíveis efeitos indesejados das plantas empregadas. Esse fenômeno não está associado com o nível de desenvolvimento econômicos da sociedade ou país, uma vez que de 30% a 50% da população dos Estados Unidos utiliza alguma forma de medicina alternativa, sendo o emprego de dentifrícios com produtos naturais

um exemplo bastante conhecido.<sup>13</sup> Nesse sentido, diversos são os estudos abordando a possibilidade da utilização da medicina natural e plantas já utilizadas na dieta na prevenção ou controle de condições associadas aos cocos cariogênicos<sup>14,15</sup>.

Dentre as plantas que vêm sendo estudadas como fontes de princípios passíveis de utilização na prevenção da cárie dentária destaca-se o gênero *Psidium*<sup>16</sup>, gênero de plantas típico da savana brasileira, o qual tem sido incorporado em dentifrícios e já faz parte de práticas de higiene bucal e é capaz de interferir com a fisiologia de microrganismos cariogênicos, diminuindo a sua acidogenicidade e produção de polissacarídeos extracelulares<sup>17</sup>.

Em estudos anteriores, as formulações aquosas e hidroalcoólicas de *Psidium cattleianum* mostraram notável atividade antimicrobiana sobre microrganismos bucais como *Streptococcus mutans* e *Fusobacterium nucleatum*, além de inibir a adesão de *S. mutans* ao vidro, sugerindo efetividade no controle de biofilmes bucais<sup>17,18</sup>.

Assim, considerando-se o potencial das formulações de araquá no controle do biofilme, o presente estudo teve como objetivos avaliar a susceptibilidade de estreptococos do grupo *mutans* à formulação aquosa de araquá e a um verniz constituído desses mesmos princípios ativos, bem como avaliar a sua ação antimicrobiana de contato.

## MATERIAL E MÉTODO

### o Extrato vegetal e verniz

A coleta e o preparo das folhas de *Psidium cattleianum* foram realizados como descrito na literatura<sup>17</sup> e as plantas foram identificadas segundo as características apresentadas pela amostra previamente depositada em herbário (CPMA: Coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas, Universidade de Campinas-UNICAMP, voucher 1299).

No preparo do extrato, somente folhas perfeitas, maduras, sem sinais de danos, como alterações morfológicas ou cromáticas, foram utilizadas. Inicialmente procedia-se à lavagem em água deionizada e secagem, por 24 horas, em local escuro, ventilado, com temperatura ambiente (média de 27°C). A seguir, as folhas eram desidratadas a 37°C, em estufa, por 7 dias, e trituradas até a obtenção de um pó fino.

Para o preparo do extrato aquoso de araquá, o pó preparado (100 g) era adicionado a 600 mL de água deionizada e mantido a 100°C, por 5 minutos, e a 55°C, por mais uma hora. A esterilização da solução era realizada por filtração em membranas de éster de celulose 0,22 µm (Millipore, Billerica, MA, USA).<sup>17</sup> O extrato era armazenado em recipientes âmbar, a -80°C, até o momento do preparo do verniz.

Para a obtenção do verniz contendo o extrato de araquá, adicionavam-se partes iguais do extrato e da base do verniz (FGM Produtos Odontológicos Ltda, Joinville, SC, Brasil), constituída de resinas naturais e sintéticas.

#### ○ **Microrganismos**

Para determinar a atividade antimicrobiana do verniz de araquá sobre *Streptococcus mutans* foram utilizados 10 isolados clínicos desses cocos acidogênicos e a cepa de referência *S. mutans* ATCC 35688, mantidos em “skim-milk”, a  $-80^{\circ}\text{C}$ , no laboratório de Microbiologia e Imunologia da FOA-UNESP. Os isolados clínicos foram obtidos de 10 pacientes diferentes e identificados por meio de testes bioquímicos, sendo que suas identificações foram confirmadas com a amplificação do DNA microbiano pela reação em cadeia da polimerase (PCR), segundo a metodologia previamente descrita.<sup>19</sup>

#### ○ **Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de araquá**

##### ✓ **Determinação da máxima diluição inibitória do extrato de araquá**

A máxima diluição inibitória do extrato aquoso de araquá sobre as cepas microbianas foi determinada pelo método de diluição em ágar.

As células bacterianas foram cultivadas em caldo de tripticaseína de soja (TSB) acrescido de extrato de levedura (0,5%) e mantidas a  $37^{\circ}\text{C}$ , por 24 horas, e avaliadas em espectrofotômetro, de forma a conter  $10^8$  UFC/ml, sendo que um inóculo de  $10^5$  UFC era transferido, por meio de replicador de Steers, para as placas contendo ágar Mueller-Hinton acrescido do extrato vegetal, de forma que a concentração final representasse 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 e 1/128 da concentração original do extrato testado.

As placas foram incubadas a  $37^{\circ}\text{C}$ , por 48 horas, em anaerobiose, microaerofilia (técnica da chama de vela) e capnofilia (10% de  $\text{CO}_2$ ), para verificar a influência da atmosfera de incubação sobre a atividade antimicrobiana do extrato. A máxima diluição inibitória foi conceituada como a maior diluição do extrato aquoso capaz de inibir totalmente o crescimento microbiano. Como controle, placas contendo o ágar Mueller-Hinton sem extrato vegetal foram inoculadas para a verificação do crescimento microbiano. Todos os testes foram realizados em triplicata.

#### ○ **Atividade antimicrobiana do verniz contendo extrato de araquá.**

Empregou-se o método de difusão em ágar, utilizando-se, para tanto, o ágar Mueller-Hinton. As células bacterianas foram cultivadas em caldo de tripticaseína de soja acrescido de extrato de levedura (0,5%) e mantidas a  $37^{\circ}\text{C}$ , por 24-48 horas, até a turbidez atingir o equivalente a  $10^8$  UFC./mL, conforme determinação em espectrofotômetro (DME-

21, Digimed, SP, Brasil). Dessa cultura, 0,1mL era transferido para as placas contendo ágar Mueller-Hinton acrescido de 0,5% (v/v) de Tween-20 (adicionado após a esterilização do meio de cultura), para minimizar os problemas de difusibilidade de elementos menos hidrossolúveis presentes no extrato e no verniz.<sup>20</sup>

Discos de papel de filtro, com seis milímetros de diâmetro, foram impregnados com 20 $\mu\text{L}$  da associação verniz/extrato de araquá e foram posicionados, em número de 4 por placa, na superfície do meio de cultura previamente inoculado. As placas foram incubadas a  $37^{\circ}\text{C}$ , em microaerofilia, por 48 horas. A avaliação dos resultados foi qualitativa, evidenciando a presença ou ausência de halos de inibição do crescimento microbiano.

Como controle positivo empregaram-se discos de papel de filtro impregnados com digluconato de clorexidina (0,2%) e como controle negativo utilizou-se solução isotônica fosfatada tamponada (PBS) e discos impregnados apenas com a base resinosa do verniz testado.

#### ○ **Atividade antimicrobiana de contato do extrato aquoso de araquá sobre microrganismos planctônicos**

Cada isolado clínico e a cepa de referência foram cultivados em caldo de tripticaseína de soja acrescido de extrato de levedura (0,5%), a  $37^{\circ}\text{C}$ , por 24 horas, até que atingissem  $10^8$  UFC/mL. A seguir, 0,1 mL era coletado e as células bacterianas eram submetidas à lavagem em solução salina fosfatada tamponada (PBS), em 3 ciclos a 3.000 x g, 8 minutos. As células microbianas eram ressuspensas no extrato aquoso de araquá até atingirem a turbidez equivalente a  $5 \times 10^6$  UFC/mL, conforme determinação por meio de espectrofotometria, e incubadas em condições de microaerofilia em dessecadores de vidro.

A seguir, alíquotas de 0,1 mL da mistura eram retiradas após 1, 5, 10 e 30 minutos de contato com o extrato e submetidas a diluições seriadas em PBS e inoculadas em ágar de tripticaseína de soja acrescido de extrato de levedura (0,5%) e sangue desfibrinado de carneiro (5%), sendo mantidas a  $37^{\circ}\text{C}$ , por 48 horas. A seguir fazia-se a contagem do número de unidades formadoras de colônias, determinando-se o total dos microrganismos sobreviventes em relação ao controle negativo, onde o inóculo inicial permanecia em contato com PBS.

Considerava-se como eficaz o tempo de exposição ao extrato de araquá que produzia uma redução de 90% no inóculo bacteriano em relação ao controle negativo.

## **RESULTADOS**

O extrato aquoso de araquá foi capaz de inibir



todos os microrganismos testados em diluições que variaram de 1/4 a 1/32 da diluição inicial. Os isolados clínicos foram, em geral, menos susceptíveis do que a cepa de referência utilizada (Tabela 1).

**Tabela 1.** Atividade inibitória do extrato aquoso de araquá sobre isolados clínicos e cepa de referência de *Streptococcus mutans*

Microrganismo	Máxima diluição inibitória do extrato de araquá
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 1	1/8
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 2	1/16
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 3	1/4
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 4	1/4
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 5	1/8
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 6	1/8
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 7	1/16
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 8	1/32
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 9	1/16
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 10	1/16
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 35688	1/16

Todos os microrganismos testados também foram inibidos pelo verniz contendo araquá. Nesses testes, para todos os isolados e amostra padrão, verificou-se a existência de um halo de inibição do crescimento de, no máximo, 3mm de diâmetro além das dimensões do próprio papel de filtro impregnado com o verniz (o qual tinha 6mm de diâmetro), ressaltando-se que em função da baixa solubilidade do verniz, optou-se apenas para verificar a presença ou não de halo de inibição do crescimento. As condições de incubação (anaerobiose, capnofilia ou microaerofilia) não interferiram na atividade antimicrobiana da associação da base do verniz com o extrato de araquá.

Observou-se que, com exceção de uma única amostra de isolado clínico (Tabela 2), todas as demais amostras de *Streptococcus mutans* tiveram seus inóculos iniciais reduzidos em 90% dentro do período de tempo selecionado, sendo que as amostras que se apresentaram mais susceptíveis ao extrato também sofreram uma redução mais rápida de suas populações, com exceção de *S. mutans* ATCC 35688, que embora tenha sido inibido por uma diluição de 1/16 do extrato, somente teve a redução de seu inóculo inicial após 30 minutos de contato com o extrato.

**Tabela 2.** Cinética da atividade antimicrobiana do extrato aquoso de araquá sobre isolados clínicos e cepa de referência de *Streptococcus mutans*

Microrganismo	Tempo (em minutos) para produzir redução de 90% no inóculo microbiano
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 1	10
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 2	10
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 3	*
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 4	30
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 5	30
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 6	30
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 7	10
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 8	10
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 9	30
<i>Streptococcus mutans</i> isolado 10	5
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 35688	30

\*Amostra que não teve o inóculo reduzido em 90% dentro do período de exposição estudado

## DISCUSSÃO

Devido à natureza do biofilme, o uso de antimicrobianos esbarra em sérias limitações, como a maior resistência que esses microrganismos apresentam quando comparados com bactérias planctônicas<sup>21</sup>, dificuldade de penetração do princípio ativo<sup>22</sup>, alterações metabólicas bacterianas<sup>22,23</sup>, bem como os efeitos colaterais dos principais agentes químicos, além da falta de biodisponibilidade<sup>24</sup>, a qual pode ser parcialmente contornada pela incorporação do princípio ativo no interior de uma matriz ou sistema de liberação lenta, como o emprego de verniz.

Assim, a descoberta de métodos e substâncias que auxiliem no controle do desenvolvimento dos biofilmes cariogênicos se torna importante para o controle e prevenção da cárie dentária<sup>11</sup>, particularmente em função da existência dos grupos de polarização dessa enfermidade, que não respondem satisfatoriamente às medidas preventivas tradicionais e concentram grande parte das novas lesões cariosas na população<sup>11,12</sup>.

Nesse sentido, os estudos do efeito de compostos naturais sobre infecções endógenas humanas<sup>14,15,25</sup>, particularmente sobre o biofilme bucal e seus impactos na ecologia microbiana<sup>14,26</sup>, tem sido alvo de interesse. Dentre os produtos naturais que tiveram sua atividade inibitória estudada destacam-se o chá-verde<sup>27</sup>, gengibre<sup>14</sup>, café<sup>28</sup>, cacau<sup>29</sup>, pistache<sup>30</sup>, goiaba<sup>16,31</sup>, além de mate, chá preto<sup>32</sup> e do araquá<sup>17</sup>.

Os extratos vegetais possuem composição complexa, que varia de acordo com a espécie testada, a localização geográfica das plantas utilizadas, com suas peculiaridades edafo-botânicas, bem como a linhagem clonal e até mesmo a estação do ano em que se deu a coleta do espécime<sup>33</sup>, o que pode interferir com as propriedades biológicas do extrato, de forma que a obtenção de formulações homogêneas constitui desafio a ser superado.

Os ensaios sobre a atividade antimicrobiana evidenciaram que o extrato aquoso de araquá foi capaz de inibir todos os microrganismos testados, mas os isolados clínicos foram, em geral, menos susceptíveis do que a cepa de referência utilizada. Entretanto, essa diferença se encontra, na maioria dos casos, dentro da margem de variação do teste, que é de uma ou duas diluições da droga testada (Tabela 1). Essa ação frente a todos os cocos cariogênicos testados pode levar à perda da vitalidade celular microbiana após alguns minutos de exposição na maioria dos microrganismos testados (Tabela 2).

A adição de uma base de verniz, para reduzir a solubilidade do extrato e garantir maior biodisponibilidade dos princípios ativos, parece não ter eliminado a atividade inibitória do extrato de araquá. Entretanto, como a solubilidade da base do verniz é modesta e, portanto, pode reduzir a difusão dos

princípios ativos, observa-se uma diminuição dos halos de inibição do crescimento microbiano com o verniz quando se compara com o extrato aquoso inicial (dados não apresentados), mas não se pode afirmar que esse fenômeno configura uma redução da atividade antimicrobiana do material, principalmente porque o efeito desejado se daria no íntimo do biofilme, onde as limitações ligadas à solubilização dos princípios ativos poderiam ser minimizadas. Dessa forma, como as dimensões dos halos de inibição do crescimento têm relação direta com a difusibilidade dos princípios ativos e não apenas com a efetividade antimicrobiana dos mesmos, optou-se por fazer uma avaliação apenas qualitativa do verniz de araquá, verificando-se ou não a presença de halos de inibição do crescimento.

A diminuição da solubilização do verniz pode prolongar seus efeitos inibitórios sobre a microbiota. Nesse sentido, amostras do verniz associado ao extrato de araquá, adicionadas a papel de filtro, imersas em água destilada, mantiveram a capacidade de inibição do crescimento microbiano por até 6 dias, dependendo do isolado microbiano testado.

As condições de incubação dos testes, como anaerobiose, capnofilia ou microaerofilia, não interferiram na atividade antimicrobiana da associação verniz e extrato de araquá, sugerindo que as tensões de oxigênio e dióxido de carbono, as quais podem afetar o metabolismo, a velocidade de proliferação dos microrganismos testados e o próprio pH do meio de cultura, não estão envolvidos na inibição do metabolismo celular. Assim, pode-se supor que os princípios com atividade antimicrobiana no verniz de araquá não sofreram interferências das condições redox adversas, o que é relevante tratando-se de futuros ensaios “*in vivo*”, onde essas condições podem sofrer variações significativas.

Os efeitos inibitórios de contato do extrato aquoso de araquá, mas não do verniz, já haviam sido relatados<sup>17</sup>, com pronunciada redução na acidogenicidade e produção de polissacarídeos extracelulares em *S. mutans*. O efeito antimicrobiano desse extrato foi comparável ao obtido com o Listerine® (Johnson & Johnson, São Paulo, SP, Brasil) sobre os microrganismos bucais<sup>17</sup>.

Os componentes do extrato de araquá capazes de produzir inibição do metabolismo celular e morte possuem espectro bastante amplo, atuando, inclusive, frente a microrganismos Gram-negativos entéricos e leveduras, e até sobre a células neoplásicas malignas, possivelmente inibindo as enzimas presentes na superfície celular ou formando complexos com macronutrientes, em particular os íons metálicos indispensáveis ao metabolismo<sup>34</sup>.

O extrato de araquá possui quantidades significativas de compostos fenólicos com atividade

antibacteriana, como os flavonoides, o tanino e o ácido gálico<sup>17,34</sup>, daí resultando sua atividade proeminente frente aos cocos cariogênicos testados. O araquá não possui níveis significativos de fluoretos, cálcio ou fosfato, de forma que, aparentemente, não interfere diretamente no processo de remineralização dental, mas é capaz de interferir com a fisiologia microbiana, reduzindo a acidogenicidade e a síntese de polímeros extra e intracelulares, o que sugere a realização de estudos “*in situ*” e, principalmente, “*in vivo*” para confirmar uma possível influência sobre a dinâmica dos processos de desmineralização e remineralização e o desenvolvimento de cárie.

Esses resultados e a baixa toxicidade apresentada pelas folhas das outras espécies do gênero *Psidium*<sup>35,36</sup>, sugerem a possibilidade de testes clínicos sobre a utilização do extrato ou do verniz no controle da microbiota cariogênica.

## CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que o extrato aquoso de araquá, incorporado ou não a uma base de verniz, é capaz de inibir “*in vitro*” as linhagens de cocos cariogênicos testados e que esse processo é relativamente rápido, facilitando o desenvolvimento de produtos a serem avaliados quanto à sua toxicidade e efeito protetor frente a desafios cariogênicos em modelos experimentais variados.

## AGRADECIMENTOS

Os recursos para a realização desse estudo foram obtidos como parte de projeto junto à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, proc. 56218-8).

## REFERÊNCIAS

1. García-Cortés JO, Medina-Solí CE, Loyola-Rodríguez JP et al. Dental caries` experience, prevalence and severity in Mexican adolescents and young adults,” Rev Salud Pública. 2009; 11(1):82-91.
2. Smith EG, Spatafora GA. Gene regulation in *S. mutans*: complex control in a complex environment. J Dent Res. 2012; 91(2):133-41.
3. Smith DJ, Mattos-Graner RO. Secretory immunity following mutans streptococcal infection or immunization. Curr Top Microbiol Immunol. 2008; 319:131-56.
4. Takashima Y, Fujita K, Ardin AC, Nagayama K, Nomura R2, Nakano K, Matsumoto-Nakano M. Characterization of the dextran-binding domain in the glucan-binding protein C of *Streptococcus mutans*. J Appl Microbiol. 2015; 119:1148-57.
5. Bennadi D, Reddy V, Kshetrimayum N. Influence of genetic factor on dental caries. Ind J Res Pharm Biotech. 2014; 2(3):1196-1207.



6. Costalonga M, Herzberg MC. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunol Lett.* 2014; 162:22-38.
7. Koo M, Pearson SK, Scott-Anne K, Abranches J, Cury JA, Rosalen PL, Park YK, Marquis RE, Bowen WH. Effects of apigenin and *tt*-farnesol on glucosyltransferase activity, biofilm viability and caries development in rats. *Oral Microbiol Immunol.* 2002; 17(6):337-42.
8. Pienihäkkinen K, Jokela J. Clinical outcomes of risk-based caries prevention in preschool-aged children. *Commun Dent Oral Epidemiol.* 2002; 30(2): 143-50.
9. Thenisch NL, Bachmann LM, Imfeld T, Leisebach Minder T, Steurer J. Are *mutans* streptococci detected in preschool children a reliable predictive factor for dental caries risk? A systematic review. *Caries Res.* 2006; 40(5):366-74.
10. Langendijk-Genevaux PS, Grimm WD, van der Hoeven JS. Sulfate-reducing bacteria in relation with other potential periodontal pathogens. *J Clin Periodontol.* 2001; 28(12):1151-7.
11. Narvai PC, Frazão P, Roncalli AG, Antunes JLF. Cárie dentária no Brasil: declínio, polarização, iniquidade e exclusão social. *Rev Panam Salud Publica.* 2006; 19(6):385-93.
12. Tanner T, Kämpfi A, Päckilä J, Patinen P, Rosberg J, Karjalainen K, Järvelin M-R, Tjäderhane L, Anttonen V. Prevalence and polarization of dental caries among young, healthy adults: cross-sectional epidemiological study. *Acta Odontol Scand.* 2013; 71(6): 1436-42.
13. Lee SS, Zhang W, Li Y. The antimicrobial potential of 14 natural herbal centrifuges. Results of an in vitro diffusion method study. *J Amer Dent Assoc.* 2004; 135(8):1133-41.
14. Azizi A, Aghayan S, Zaker S, Shakeri M, Entezari N, Lawaf S. In vitro effect of *zingiber officinale* extract on growth of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. *Int J Dent.* 2015. Doi 10.1155/2015/489842
15. Cheng L, Li J, He L, Zhou X. natural products and caries prevention. *Caries Res.* 2015; 49(suplem.1):38-45.
16. Prabu GR, Gnanamani A, Sadulla S. Guaijaverin - a plant flavonoid as potential antiplaque agent against *Streptococcus mutans*. *J Appl Microbiol.* 2006; 101(2):487-95.
17. Brighenti FL, Gaetti-Jardim Jr E, Danelon M, Evangelista GV, Delbem ACB. Effect of *Psidium cattleianum* leaf extract on enamel demineralisation and dental biofilm composition in situ. *Arch Oral Biol.* 2012; 57(8):1034-40.
18. Brighenti FL, Luppens SBI, Delbem ACB, Deng DM, Hoogenkamp MA, Gaetti-Jardim Jr E, Dekker HL, Crielaard W, ten Cate JM. Effect of *Psidium cattleianum* leaf extract on  $\alpha$  viability, protein expression and acid production. *Caries Res.* 2008; 42(2):148-54.
19. Castilho AR, Pardi V, Pereira CV. Dental caries experience in relation to salivary findings and molecular identification of *S. mutans* and *S. sobrinus* in subjects with Down syndrome. *Odontology.* 2011; 99(2):162-7.
20. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol.* 1999; 86(6):985-91.
21. Landry RM, An D, Hupp JT, Singh PK, Parsek MR. Mucin-*Pseudomonas aeruginosa* interactions promote biofilm formation and antibiotic resistance. *Mol Microbiol.* 2006; 59(1):142-51.
22. Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res.* 2004; 38(3): 204-11.
23. Guggenheim B, Guggenheim M, Gmür R, Giertsen E, Thurnheer T. Application of the Zürich biofilm model to problems of cariology. *Caries Res.* 2004; 38(3): 212-22.
24. Bruschi ML, Panzeri H, Freitas O, Lara EHG, Gremião MPD. Sistemas de liberação de fármaco intrabolsa periodontal. *Rev Bras Cienc Farm.* 2006; 42(1):29-47.
25. Prajapati RA, Raol BV. The study on the efficacy of some herbal extracts for the control of dental caries pathogen-*Streptococcus mutans*. *Int J Pharm Sci Health Care.* 2014; 1(4):49-58.
26. Ozaki F, Pannuti CM, Imbronito AV, Pessotti W, Saraiva L, Freitas NM, Ferrari G, Cabral VN. Eficácia de um dentifrício fitoterápico em pacientes com gengivite estabelecida- ensaio clínico aleatório. *Braz Oral Res.* 2006; 20(2):172-7.
27. Otake S, Makimura M, Kuroki T, Nishihara Y, Hirasawa M. Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea. *Caries Res.* 1991; 25(6):438-43.
28. Landucci LF, Oliveira LD, Brandão EHS, Koga-Ito C, Gaetti-Jardim Jr E, Jorge AOC. Efeitos de *Coffea arabica* sobre a aderência de *Streptococcus mutans* à superfície de vidro. *Ciênc Odontol Bras.* 2003; 6(3):58-64.
29. Matsumoto M, Tsuji M, Okuda J, Sasaki H, Nakano K, Osawa K, Shimura S, Ooshima T. Inhibitory effects of cacao bean husk extract on plaque formation *in vitro* and *in vivo*. *Eur J Oral Sci.* 2004; 112(3):249-56.
30. Hosseini F, Adlgostar A, Sharifnia F. Antibacterial activity of *Pistacia atlantica* extracts on *Streptococcus mutans* biofilm. *Int Res J Biological Sci.* 2013; 2(2):1-7.
31. Razak FA, Othman RY, Rahim ZHA. The effect of *Piper betle* and *Psidium guajava* extracts on the

- cell-surface hydrophobicity of selected early settlers of dental plaque. J Oral Sci. 2006; 48(2):71-5.
32. Gaetti-Jardim Jr E, Landucci LF, Okamoto AC, Akeshigue H. Antimicrobial activity of plants infusions on oral fusobacteria and their adherence to human erythrocytes. Arch Health Invest. 2013; 2(1):3-9.
33. Alves, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. Cad Tem Quím Nova Escola. 2001; 3(5):11-15.
34. Medina AL, Haas LIR, Chaves FC, Salvador M, Zambiasi RC, Silva WP, Nora L, Rombaldi CV. Araça (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. Food Chem. 2011; 128 (4): 916-22.
35. Costa TD, Vieira S, Andrade SF, Maistro EL. Absence of mutagenicity effects of *Psidium cattleianum* Sabine (*Myrtaceae*) extract on peripheral blood and bone marrow cells of mice. Genet Mol Res 2008;7:679-86.
36. Gutiérrez RM, Mitchell S, Solis RV. *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. J Ethnopharmacol. 2008;117(1):1-27.

## **CONFLITO DE INTERESSES**

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## **AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA**

**Ana Claudia Okamoto**  
aokamoto@foa.unesp.br

**Submetido em 27/09/2015**

**Aceito em 08/10/2015**