

Atividade Antimicrobiana *in vitro* da *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) sobre Bactérias Cariogênicas

Antibacterial Activity *in vitro* of *Eugenia uniflora* L. (pitanga) against Cariogenic Bacteria

CIBELE BRAGA DE OLIVEIRA¹
DIANA GABRIELA DE SOUSA SOARES¹
MARÇAL DE QUEIROZ PAULO²
WILTON WILNEY NASCIMENTO PADILHA³

RESUMO

Objetivo: Verificar a ação antibacteriana *in vitro* da *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) frente a bactérias cariogênicas. **Material e Métodos:** Avaliaram-se: (A) extrato hidroalcoólico do fruto maduro, (B) extrato hidroalcoólico do fruto verde, (C) infuso da folha fresca, (D) óleo essencial da folha fresca e (E) solução de clorexidina a 0,2% (controle positivo). Utilizaram-se linhagens bacterianas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus sanguis* (ATCC 15300), *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073), *Streptococcus mitis* (ATCC 903) e *Streptococcus oralis* (ATCC 10557). Determinou-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM) em meio sólido Ágar Müeller Hinton (DIFCO®), pela técnica dos poços, nas concentrações de 10% e diluições desta de 1:1 até 1:32. **Resultados:** A CIM encontrada para A, B e C foi, respectivamente, 2,5%, 5% e 2,5% sobre *S. mutans*; 0,3125%, 5% e 0,15625%, sobre *S. sanguis*; 10%, 10% e 5%, sobre *S. mitis*; 2,5%, 5% e 5%, sobre *S. salivarius*; 0,15625%, 0,625% e 0,15625%, sobre *S. oralis*. O óleo essencial da folha da pitanga não demonstrou atividade antibacteriana. **Conclusão:** os extratos hidroalcoólicos do fruto verde e maduro, bem como o infuso da folha fresca da pitanga apresentaram atividade antibacteriana sobre as bactérias testadas; o óleo essencial da folha da pitanga não apresentou ação antibacteriana nas concentrações igual e inferiores a 10%; o infuso da folha fresca da pitanga obteve os maiores valores de CIM; o *S. oralis* foi o microrganismo mais sensível, enquanto que o *S. mitis* se mostrou o mais resistente.

DESCRIPTORIOS

Bactérias. Fitoterapia. Placa dentária.

SUMMARY

Objective: To verify the antibacterial activity *in vitro* of *Eugenia uniflora* L. (pitanga) against cariogenic bacteria. **Material and Methods:** It was evaluated: (A) Ethanol extract of the mature fruit, (B) Ethanol extract of the green fruit, (C) liquid extract of the cool leaf, (D) essential oil of the cool leaf and (E) 0,2% of chlorhexidine solution (positive control). It was used strain of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus sanguis* (ATCC 15300), *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073), *Streptococcus mitis* (ATCC 903), *Streptococcus oralis* (ATCC 10557). It was determined Minimal Inhibitory Concentration (MIC) in solid medium Müeller Hinton Ágar (DIFCO®), for the technique of the wells in the concentrations of 10% and its dilutions of 1:1 until 1:32. **Results:** The MIC found for A, B and C were, respectively, 2.5%, 5% and 2.5% for *S. mutans*; 0.3125%, 5% and 0.15625%, for *S. sanguis*; 10%, 10% and 5%, for *S. mitis*; 2.5%, 5% and 5%, for *S. salivarius*; 0.15625%, 0.625% and 0.15625%, for *S. oralis*. The data gotten for the essential oil of the leaf of *Eugenia uniflora* L. didn't demonstrate antibacterial activity. **Conclusions:** the Ethanol extracts produced from the green and mature fruits, as well as of liquid extract of the cool leaf of pitanga presented antibacterial activity on the strain plaque bacteria former tested; the essential oil of the leaf of pitanga didn't present antibacterial activity in concentrations equal and smaller than 10%; liquid extract of the cool leaf of pitanga was the extration form that got greater values of MIC; the *S. oralis* was the bacteria most sensitive, while the *S. mitis* showed to be the most resistant.

DESCRIPTORS

Bacteria. Phytotherapy. Dental plaque.

1 Cirurgiã-dentista.

2 Professor Adjunto da Disciplina de Química Orgânica, Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB, Brasil.

3 Professor Titular da Disciplina de Clínica Integrada, Departamento de Clínica e Odontologia Social do CCS da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB, Brasil.

Na cavidade bucal, há a presença de uma microbiota complexa e variada, composta por um diverso número de ecossistemas em equilíbrio (PEREIRA, 2002). O rompimento desse equilíbrio originará o crescimento exagerado de alguns microrganismos, provocando o desenvolvimento de processos infecciosos, como cárie, doença periodontal, candidoses e outros (KIYONO *et al.*, 1993).

A cárie, juntamente com a doença periodontal, acomete um número significativo de indivíduos, sendo considerada a patologia bucal mais prevalente na população mundial (LOESCHE, 1993).

Conceituada como uma doença multifatorial, a cárie dentária é resultante da interação de fatores como hospedeiro, dieta, tempo e a microbiota. Esta, quando presente formando o biofilme dental, exerce um papel primário para o desencadeamento da cárie, sem o qual não há o aparecimento da doença (BUISCHI, 2000; MALTZ, 2000). Dessa forma, o controle do biofilme dental é um fator importante no âmbito da prevenção da cárie, estando disponíveis para isso procedimentos mecânicos e químicos (MOFRIN; RIBEIRO, 2000).

Segundo FINE *et al.* (2000), os procedimentos mecânicos, como escovação associada ao uso do fio dental, são eficazes no controle do biofilme dental. No entanto, para que esses procedimentos sejam realizados adequadamente, é preciso que o paciente apresente habilidade motora, persistência e motivação para o emprego de tais recursos.

Os meios químicos são utilizados como complementares frente às limitações dos métodos mecânicos de higiene, principalmente em pacientes que usam aparelhos ortodônticos, no pré e pós-operatórios de cirurgias bucais e para pacientes especiais com dificuldades motoras (ITO; TIRAPELLI, 2003; JARDIM, P. S.; JARDIM, E. G. J., 1998).

Frente ao exposto, vários produtos químicos, agentes biológicos e substâncias naturais têm demonstrado ação anticárie na restrição da formação do biofilme dental (DUARTE *et al.*, 2003).

Dentre as substâncias empregadas como agente químico auxiliar ao método mecânico de higiene bucal, a clorexidina é a mais aceita e recomendada, em função da sua eficácia demonstrada tanto *in vitro* quanto *in vivo* (BARROS *et al.*, 1998; RAMOS *et al.*, 1997). A clorexidina é considerada um importante agente terapêutico no controle do biofilme dental e periodontopatias, atuando na formação da película adquirida e apresentando ação bactericida sobre microrganismos gram-positivos, gram-negativos, leveduras, aeróbios

There is a presence of a complex and varied microbiotics in the mouth. Such microbiotics is composed of a varied number of ecosystems in balance (PEREIRA, 2002). The breaking of this balance will make ways for an exaggerated growing of some microorganisms which may provoke the development of infectious processes, such as: caries, periodontal disease, candidacies, among others (KIYONO *et al.*, 1993).

The caries, along with the periodontal disease reach a great number of persons, that is why it is considered the most prevalent mouth pathology in the world population (LOESCHE, 1993).

Regarded as a multifactorial disease, the dental caries is a result of the interaction of factors, for instance: harborer, diet, timing and microbiotics. This former one, when it forms the dental biofilm, takes a primary role of the caries development, without which there is not any presence of disease (BUISCHI, 2000; MALTZ, 2000). Thus, the control of the dental biofilm is an important factor with respect to the caries prevention. To do so, some mechanical and chemical procedures are available (MOFRIN; RIBEIRO, 2000).

According to FINE *et al.* (2000), the mechanical procedures, such as brushing the teeth and using Q-tip, are efficient in the control of the dental biofilm. However, it is necessary that the patient is able to use the motor skills, has perspiration and motivation to handle with those mechanical procedures.

The chemical means are used as complements due to the lack of hygienic methods, especially in patients who wear braces, during the previous and post surgical period in dental interventions. The chemical means are also relevant in patients who have deficiency in motor skills (ITO; TIRAPELLI, 2003; JARDIM, P. S.; JARDIM, E. G. J., 1998).

Considering the above mentioned, many chemical products, biological agents and natural substances have demonstrated an anticaries action by refraining the advance of dental biofilm (DUARTE *et al.*, 2003).

Among the substances regarded as chemical agents which facilitates the mechanical method of dental hygiene, the clorexidine is the most acceptable and recommended due to its efficiency either *in vitro* or *in vivo* (BARROS *et al.*, 1998; RAMOS *et al.*, 1997). The clorexidine is considered an important therapeutical agent in the control of dental biofilm and periodontopathies, once that it acts on the formation of acquired pellicle and presenting bacterial action over microorganisms gram-positive, gram-negative, barm,

facultativos e anaeróbicos, além de inibir a aderência destes (MENDES, 1995; GEBRAN; GEBERT, 2002; VINHOLIS *et al.*, 1996).

Entretanto, ela possui efeitos adversos que podem restringir o seu uso clínico (VINHOLIS *et al.*, 1996). Com isso, pesquisas que utilizam substâncias naturais no combate ao controle do biofilme dental vêm crescendo nos últimos anos.

Além disso, há vários fatores que têm tornado a fitoterapia uma boa alternativa, como: o respaldo e a confiabilidade transmitida pelas populações que a utilizam, a fácil aquisição, os baixos custos e pouco ou nenhum efeito adverso (SAXENA; SINGHAL, 1999).

O uso de plantas medicinais é considerado uma alternativa muito útil em programas de atenção primária de saúde, quando da justificação científica de suas propriedades terapêuticas, sendo recomendável especialmente no atendimento de comunidades carentes (MATOS, 1991). Nesse contexto, surge a *Eugenia uniflora* L. (pitanga), um vegetal originário do Brasil usado há muitos anos pela medicina popular com propriedade terapêutica adstringente, anti-diarréica, febrífuga, estimulante, refrescante, digestiva, aromática, tônica, balsâmica, antioxidante e antibiótica. (BRAGA, 1960; LIMA, V. L. A. G.; MELO; LIMA, D. E. S, 2002; SIMÕES, 1989).

Na literatura, um grande número de investigações tem demonstrado a atividade antimicrobiana da pitanga sobre vários microrganismos patogênicos. Dentre eles, o estudo de DRUMOND *et al.* (2004) observaram que o óleo da folha da pitanga apresentou atividade antimicrobiana sobre bactérias cariogênicas, bem como reduziu o número de *Streptococcus mutans* de escovas dentárias contaminadas *in vitro* por esse microrganismo. LIMBERGER *et al.* (1998) estudaram óleos voláteis de folhas frescas de diversas espécies da família Myrtaceae, dentre elas a *E. uniflora* L., concluindo que diferentes graus de potência foram encontrados ao se avaliarem a atividade antimicrobiana de vários óleos essenciais a partir da forma pura.

O estudo de OLIVEIRA, SOARES e PADILHA (2007) avaliaram a eficácia do uso de spray de óleo essencial da *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) na descontaminação *in vivo* de escovas dentárias e verificaram que essa planta é eficaz na descontaminação de *Streptococcus mutans* presentes nas escovas dentárias.

Apesar da maioria dos estudos ter avaliado a atividade antimicrobiana do óleo essencial, as preparações de uso popular como infusos ou decoctos das folhas favorecem também a extração de taninos, os quais apresentam atividade antimicrobiana. No estudo de

optional aerobes and anaerobes, besides it inhibit the adherence of the same microorganisms (MENDES, 1995; GEBRAN; GEBERT, 2002; VINHOLIS *et al.*, 1996).

However, this chemical substance has adverse effects which can restrict its clinical use (VINHOLIS *et al.*, 1996). On being so, researches that use natural substances in the control of dental biofilm have been increasing over the years.

Moreover, there are many factors have considered the phytotherapy as an efficient alternative, such as: the reliance and trustworthiness guaranteed by the persons Who have been submitted to such a treatment, the easy access, the low prices and little or no adversial effect (SAXENA; SINGHAL, 1999).

The medical herbs use is considered a useful alternative in primary healthcare programs, considering the scientific rationale of the therapeutical aspects the attendance to poor community is highly recommended (MATOS, 1991). In this context, it emerges the *Eugenia uniflora* L. (pitanga), an original Brazilian fruit that has been used in popular medical care for years as an astringent therapeutical tool, regarded as anti-diarrheal, febrifuge, stimulant, refreshing, digestive, aromatic, tonic, balsamic, antioxidant and antibiotic (BRAGA, 1960; LIMA, V. L. A. G.; MELO; LIMA, D. E. S, 2002; SIMÕES, 1989).

In textbooks, a great number of investigations have demonstrated the antimicrobial activity of *pitanga* over many pathogenic microorganisms. Among these so referred microorganisms, according to the researches of DRUMOND *et al.* (2004) it was observed that the essential oil of the fresh leaf of *pitanga* presented antimicrobial activity over cariogenic bacteria, as well as diminishing the number of *Streptococcus mutans* out of toothbrushes contaminated *in vitro* by these microorganisms. LIMBERGER *et al.* (1998) studied the essential oils of fresh leaves of various species of the kin *Myrtaceae*, among them it was emphasizes the *E. uniflora* L., therefore the different levels of potency were found by evaluating the antimicrobial activity of various essential oils starting from the primary matter.

OLIVEIRA, SOARES e PADILHA's treatise (2007) evaluated the efficiency of the use of essential oil of *Eugenia uniflora* L. (pitanga) in spray acting for the decontamination *in vivo* of toothbrushes. The results demonstrated that the *Eugenia uniflora* L. (pitanga) seems to be efficient in the decontamination of *Streptococcus mutans* found in toothbrushes.

Although most of the studies evaluate the antimicrobial activity of the essential oil, the popular use of infusions, such as decoctos from the leaves, was also favorable for the extraction of tannins which

SCHAPOVAL *et al.* (1994), essas preparações usuais não demonstraram atividade antimicrobiana, concluindo que a dose empregada nas preparações populares não seja suficiente para que esta atividade ocorra.

A partir desta revisão, constataram-se relatos da atividade antibacteriana da *Eugenia uniflora L.*, justificando assim o experimento proposto para os microrganismos de interesse neste estudo. Por isso, o trabalho se destina a avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* da *Eugenia uniflora L.* (Pitanga) sobre microrganismos envolvidos no processo de formação do biofilme dental por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) em meio sólido, além de comparar o seu desempenho com a clorexidina, um reconhecido agente antimicrobiano.

MATERIAL E MÉTODOS

Seguindo LAKATOS e MARCONI (1995) a metodologia utilizada constou de uma abordagem indutiva, com procedimentos comparativos, utilizando como técnica de pesquisa a documentação direta intensiva em laboratório.

Os testes laboratoriais foram executados de acordo com a metodologia descrita por PEREIRA (2002).

Foram realizadas extrações dos constituintes da folha e fruto da pitanga (*Eugenia uniflora L.*) no Laboratório de Produtos Químicos Naturais (LQPN) do Centro de Ciências Exatas e da Natureza. Para isso, foram coletadas 130g de folhas frescas e 50g de frutos verdes e 50g de frutos maduros da pitanga presentes em pitangueiras cultivadas na cidade de João Pessoa – PB. Foram avaliados 5 grupos experimentais: (A) extrato hidroalcoólico do fruto maduro, (B) extrato hidroalcoólico do fruto verde, (C) infuso da folha fresca, (D) óleo essencial da folha fresca e (E) solução de clorexidina a 0,2% (controle positivo).

Extração dos componentes da folha e fruto da Pitanga

Processo de produção dos extratos hidroalcoólicos

A partir de polpa dos frutos verdes e maduros da pitanga (*Eugenia uniflora*) foram realizadas extrações hidroalcoólicas (etanol absoluto e água destilada na proporção 7:3) pelo período de 72 horas consecutivas. Após esse tempo de extração foi realizado uma filtração a vácuo e o produto foi denominado de extrato bruto. O extrato assim obtido foi concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida a uma temperatura de 55

contains antimicrobial activity. According to SCHAPOVAL *et al.* (1994), these popular infusions do not demonstrate antimicrobial activity, on being so the dose applied in these same infusions is not sufficient for the effectiveness of the antimicrobial activity.

Starting from this review, it was perceived reports about the antibacterial activity of *Eugenia uniflora L.*, fact that justifies the herein proposed experiment for microorganisms. Thus, this paper aims to evaluate the antibacterial activity *in vitro* of *Eugenia uniflora L.* (*pitanga*) over microorganisms involved in the dental biofilm formation process through the determination of the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) in solid medium, besides comparing its performance with the chlorhexidine which is a reknown antimicrobial agent.

MATERIAL AND METHODS

According to LAKATOS; MARCONI (1995) the methodology used consisted of an inductive approach and comparative procedures. To do so, it was used the direct and intensive reports in laboratory as technique of research.

The laboratorial tests were executed according to the methodology described by PEREIRA (2002).

It was extracted some substances from the leaf and the fruit of *pitanga* (*Eugenia uniflora L.*) in the Natural Chemical Products Laboratory (NCPL) of the Center of Exact Sciences and of the Nature. To do so, it was collected 130g of fresh leaf and 50g of green fruit and 50g of mature fruit of *pitanga*: (A) ethanol extracts which are found in *pitanga* tree in the city of João Pessoa – PB. It was evaluated experimental five groups: (A) ethanol extract of the mature fruit, (B) Ethanol extract of the green fruit, (C) liquid extract of the cool leaf, (D) essential oil of the cool leaf and (E) 0,2% of chlorhexidine solution (positive control).

Extraction of the components of the leaf and fruit *pitanga*

Ethanol Extracts Production Process

Starting from the pulp of the green and mature fruit of *pitanga* (*Eugenia uniflora*) it was extracted ethanol (absolute ethanol and distilled water in the proportion of 7:3) during a period of 72 hours ininterruptly. After this period of extraction it was performed a vacuum permeation and the result was dominated as brute extract. This obtained extract was concentrated in a whirl evaporator under a reduced pressure at the temperature

a 60°C para eliminação total do solvente (etanol). O material obtido sem álcool, depois da concentração, apresentou-se em forma de pasta.

Processo de produção do óleo essencial

A extração do óleo essencial das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora*) foi realizada após coletas de 100g de folhas frescas durante o período matinal das 7 às 9 horas. O material vegetal coletado foi inicialmente posto à sombra por 2 horas e em seguida foram colocadas no aparelho extrator de óleo essencial Clevenger MQP. A extração foi realizada pelo método da hidrodestilação ou arraste de vapor usando n-hexano como solvente orgânico para concentrar o óleo essencial. Para separar o hexano do óleo essencial extraído das folhas, o material foi levado ao aparelho rotavapor e o solvente foi evaporado a pressão reduzida na temperatura de 50°C. As amostras de óleo essencial das folhas de pitanga assim obtidos foram preparadas em forma de solução com adição de Polissorbato 80 (Tween® 80). A utilização do Tween® 80 no preparo das amostras em óleo teve por finalidade diminuir a tensão superficial no contato do óleo (característica apolar) com o meio de cultura (característica polar) para permitir difusão pelo ágar.

Processo de produção do infuso

Para obtenção do infuso das folhas de pitanga foram colocados 30 g de folhas frescas em 1000 mL de água destilada fervente e depois deixada em percolação pelo período de 10 minutos. Após esse processo de extração a quente o produto foi submetido a extração a vácuo para obtenção do infuso como produto acabado.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Utilizaram-se, no presente trabalho, linhagens bacterianas padronizadas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus sanguis* (ATCC 15300), *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073), *Streptococcus mitis* (ATCC 903), *Streptococcus oralis* (ATCC 10557), obtidas mediante solicitação na Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

A atividade antibacteriana em placas foi determinada pelo método de difusão em meio sólido para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). As linhagens foram reativadas em caldo nutritivo Brain Heart Infusion (BHI, DIFCO®) e incubadas a 37°C

from 55°C to 60°C in order to eliminate the solvent (ethanol) totally. The material obtained without alcohol was presented in a paste form, after the concentration.

Essential Oil Production Process

The essential oil extraction of *pitanga* leaves (*Eugenia uniflora*) happened after the collect of 100g of fresh leaves during the morning time from 7.00 to 9.00. The vegetable material collected was put under the shadow initially per 2 hours, and afterwards the same material was put into the extractor device of essential oil Clevenger MQP. The extraction either followed the method of hydrodistillation or dragging vapour by using n-hexane as an organic solvent in order to concentrate the essential oil. To separate the hexane from the essential oil extracted from the leaves, the material was taken to the whirlvapour device and the solvent was evaporated under reduced pressure at the temperature of 50°C. The samples of essential oil of *pitanga* leaves obtained were prepared in solution shape added of Polissorbate 80 (Tween® 80). The use of Tween® 80 in the preparation of the samples in oil aimed to diminish the superficial tension by the contact with the oil (polar characteristic) and the culture medium (apolar characteristic) in order to enable the diffusion by ágar.

Infusion Production Process

To obtain the infusion of *pitanga* leaves it was put 30g of fresh leaves in 1000 mL of boiled distilled water and afterwards left in percolation by the period of 10 minutes. After this process of extraction in a warm temperature, the product was submitted to a vapour extraction in order to obtain the infusion as a final product.

Determining the Minimal Inhibitory Concentration (MIC)

It was used in this paper standard bacterial kins of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Streptococcus sanguis* (ATCC 15300), *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073), *Streptococcus mitis* (ATCC 903) and *Streptococcus oralis* (ATCC 10557) which were obtained by requesting funds at the Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro.

The antibacteriana activity in plaques was determined by the method of diffusion in solid medium in order to determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC). The kins were reactivated in nutritive broth Brain Heart Infusion (BHI, DIFCO®) in

por 24 horas em microaerofilia através do método da chama da vela. Depois desse período, as culturas foram diluídas até uma concentração de aproximadamente 10^6 UFC/mL, utilizando-se como referência a escala de turbidez 0,5 da escala de McFarland.

Após a reativação, procedeu-se a semeadura dos inóculos, na superfície das placas de petri contendo o meio de cultura Ágar Müller Hinton (DIFCO®) pela técnica de inundação. Foram realizadas perfurações no meio de cultura de 6mm de diâmetro. Nos orifícios foram inseridos 50ml dos fitoterápicos a 10% e diluídos de 1:1 até 1:32. As placas teste foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por um período de 24 horas em microaerofilia e o diâmetro dos halos de inibição formados foi mensurado em mm por meio de lupa estereoscópica. Com o objetivo de controlar o estudo e assegurar a sua reprodutibilidade, os experimentos foram realizados em duplicatas. Foi considerada como CIM a menor concentração dos fitoterápicos que inibiu o crescimento bacteriano.

De maneira semelhante à descrita nos itens acima foram testadas diluições seriadas e decrescentes a partir de uma solução de clorexidina a 0,2% (controle positivo) produzida por farmácia de manipulação.

RESULTADOS

Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Foi observada presença de halos de inibição que indicam atividade antibacteriana para os extratos hidroalcoólicos produzidos a partir do fruto verde e maduro, bem como do infuso da folha fresca da pitanga. O óleo essencial da folha da pitanga não mostrou atividade antibacteriana.

A clorexidina, utilizada como controle positivo neste estudo, apresentou inibição do crescimento das bactérias até a última diluição (0,003125%), com exceção do *S. mitis* cuja CIM foi de 0,00625% (Tabela 1).

Na Tabela 2 estão expostas as CIM obtidas do antibiograma do extrato hidroalcoólico do fruto maduro da pitanga, os quais mostram atividade antibacteriana sobre todas as linhagens testadas. A menor CIM foi obtida frente às linhagens de *Streptococcus oralis* (0,15625%), enquanto que o *Streptococcus mitis* foi inibido apenas na primeira diluição do extrato (10%), apresentando resultado menos eficaz.

O extrato hidroalcoólico do fruto verde da pitanga apresentou as menores CIM sobre as bactérias quando comparada aos outros fitoterápicos. Observa-se, na

incubate at 37°C per 24 hours in microaerophilic through the method of candle flame. After this period, the cultures were diluted until a concentration of about 10^6 CFU/mL, by using the turbidity scale 0,5 of the McFarland scale as reference.

After the reactivation, it was performed the sowing of inocules in the surface of petri dishes containing the culture Ágar Müller Hinton (DIFCO®) medium by the drowning technique. It was perforated in culture medium 6 mm of diameter. In the wholes it was inserted 50ml of phitotherapeutics at 10% and diluted at 1:1 until 1:32. The test plaques were incubated in bacteriological incubator at 37°C per 24 hours in microaerophilic and the diameter of the halo of inhibition formatted was measured in millimeters by using a stereoscopic magnifying glass. Aiming to control this research and assure its reproducibility, the experiments were performed in doublet. It was considered as MIC the minor concentration of phitotherapeutic which inhibited the growth of bacteria.

Seemingly to the above described, it was tested some serial and decreasing dilutions starting from a 0,2% of chlorexidine solution (positive control) produced by manipulation pharmacy.

RESULTS

Minimal Inhibitory Concentration (MIC)

It was observed the presence of halo of inhibition which indicates antibacterial activity for hydroalcoholic extracts produced from both mature and green fruit, as well as from the infusion of *pitanga* fresh leaf. The essential oil of *pitanga* leaf did not demonstrate antibacterial activity.

The chlorexidine, used as positive control in this research, presented inhibition in the growth of bacteria until the last dilution (0,003125%), except for the *S. mitis* of which MIC was observed at 0,00625% (Table 1).

In Table 2 are exposed the MIC obtained in the antiogram of hydroalcoholic extract from the mature fruit of *pitanga*, which demonstrate antibacterial activity over all the kins tested. The minor MIC obtained with respect to the kins of *Streptococcus oralis* (0,15625%), while the *Streptococcus mitis* was inhibited only in the first dilution of extract (10%), which presented a non-efficient result.

The hydroalcoholic extract of *pitanga* green fruit presented the minor MIC over bacteria when compared to other phitotherapics. One observes in Table 3 a better activity over the *Streptococcus oralis* (MIC of 0,625%

Tabela 1 - Atividade antibacteriana (média dos halos em milímetros) da Clorexidina frente às linhagens estudadas. Realizado no Laboratório de Produtos Químicos Naturais (LQPN) do Centro de Ciências Exatas e da Natureza. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2007.

Concentrações em %	Controle Positivo – Clorexidina (halos em mm)				
	<i>S. mutans</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. oralis</i>
0,200000	31,0	20,0	16,0	26,0	21,0
0,100000	30,0	18,0	15,0	23,0	19,0
0,050000	28,0	17,0	14,0	22,0	18,0
0,025000	25,0	16,0	13,0	20,0	16,0
0,012500	23,0	14,0	12,0	17,0	13,0
0,006250	20,0	12,0	11,0	15,0	10,0
0,003125	17,0	11,0	-	13,0	9,0

Tabela 2 - Atividade antibacteriana (média dos halos em milímetros) do extrato hidroalcoólico do fruto maduro da *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) frente às linhagens estudadas. Realizado no Laboratório de Produtos Químicos Naturais (LQPN) do Centro de Ciências Exatas e da Natureza. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2007.

Concentrações em %	Extrato hidroalcoólico do fruto maduro (halos em mm)				
	<i>S. mutans</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. oralis</i>
10,00000	16,0	17,0	12,0	17,0	22,0
5,00000	13,0	13,0	-	16,0	21,0
2,50000	11,0	12,0	-	12,0	16,0
1,25000	-	9,0	-	-	15,0
0,62500	-	8,0	-	-	12,0
0,31250	-	7,0	-	-	11,0
0,15625	-	-	-	-	10,0

Tabela 3, melhor atividade sobre o *Streptococcus oralis* (CIM do extrato de 0,625%) e pior desempenho desse fitoterápico na inibição do *Streptococcus mitis* (CIM de 10%).

Dentre os fitoterápicos da pitanga avaliados, o infuso da folha fresca da pitanga apresentou a maior ação antibacteriana, mostrado na Tabela 4. Os *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus oralis* foram inibidos até a última diluição (0,15625%). Sobre o *Streptococcus mutans*, o infuso da folha fresca da pitanga apresentou CIM de 2,5% e sobre os *Streptococcus mitis* e *Streptococcus salivarius* a mesma CIM de 5%.

O óleo essencial da pitanga não apresentou atividade antibacteriana para as linhagens de bactérias utilizadas neste estudo (Tabela 5).

extract) and the worst performance of this phitotherapeutic in the inhibition of *Streptococcus mitis* (MIC of 10%).

Among the phitotherapeutic of *pitanga* evaluated, the infusion of *pitanga* fresh leaf presented the major antibacterial action, demonstrated in Table 4. The *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus oralis* were inhibited until the last dilution (0,15625%). Over the *Streptococcus mutans*, the infusion of *pitanga* fresh leaf presented MIC of 2,5% and over the *Streptococcus mitis* and *Streptococcus salivarius* the same MIC of 5%.

The *pitanga* essential oil did not present antibacterial activity for the kinds of bacteria used in this research (Table 5).

Tabela 3 - Atividade antibacteriana (média dos halos em milímetros) do extrato hidroalcoólico do fruto verde da *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) frente às linhagens estudadas. Realizado no Laboratório de Produtos Químicos Naturais (LQPN) do Centro de Ciências Exatas e da Natureza. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2007.

Concentrações em %	Extrato hidroalcoólico do fruto verde (halos em mm)				
	<i>S. mutans</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. oralis</i>
10,00000	11,0	9,0	12,0	18,0	20,0
5,00000	8,0	8,0	-	13,0	16,0
2,50000	-	-	-	-	14,0
1,25000	-	-	-	-	12,0
0,62500	-	-	-	-	10,0
0,31250	-	-	-	-	-
0,15625	-	-	-	-	-

Tabela 4 - Atividade antibacteriana (média dos halos em milímetros) do infuso da folha fresca da *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) frente às linhagens estudadas. Realizado no Laboratório de Produtos Químicos Naturais (LQPN) do Centro de Ciências Exatas e da Natureza. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2007.

Concentrações em %	Infuso da folha fresca (halos em mm)				
	<i>S. mutans</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. oralis</i>
10,00000	14,0	20,0	9,0	15,0	23,0
5,00000	9,0	18,0	7,0	12,0	21,0
2,50000	8,0	17,0	-	-	19,0
1,25000	-	15,0	-	-	16,0
0,62500	-	13,0	-	-	14,0
0,31250	-	12,0	-	-	13,0
0,15625	-	11,0	-	-	10,0

Tabela 5 - Atividade antibacteriana (média dos halos em milímetros) do óleo essencial da folha fresca da *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) frente às linhagens estudadas. Realizado no Laboratório de Produtos Químicos Naturais (LQPN) do Centro de Ciências Exatas e da Natureza. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2007.

Concentrações em %	Óleo essencial da folha (halos em mm)				
	<i>S. mutans</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. oralis</i>
10,00000	-	-	-	-	-
5,00000	-	-	-	-	-
2,50000	-	-	-	-	-
1,25000	-	-	-	-	-
0,62500	-	-	-	-	-
0,31250	-	-	-	-	-
0,15625	-	-	-	-	-

DISCUSSÃO

Ao avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* da *Eugenia uniflora* L. (pitanga) sobre bactérias formadoras do biofilme dental foram obtidos, no presente estudo, resultados satisfatórios para os extratos hidroalcoólicos produzidos a partir do fruto verde e maduro, bem como do infuso da folha fresca da pitanga. O óleo essencial da folha da pitanga não apresentou atividade antibacteriana.

O extrato hidroalcoólico do fruto maduro da pitanga apresentou atividade antibacteriana sobre as bactérias utilizadas nesse estudo, onde os melhores resultados foram obtidos frente às linhagens de *Streptococcus oralis*, que apresentaram CIM de 0,15625%. O *Streptococcus sanguis* apresentou CIM de 0,3125% e os *Streptococcus mutans* e *Streptococcus salivarius* apresentaram semelhante susceptibilidade a esse fitoterápico com CIM de 2,5%. Resultados menos satisfatórios foram obtidos sobre a linhagem de *Streptococcus mitis*, onde apenas a primeira diluição do extrato (10%) inibiu esse microrganismo.

SOARES, OLIVEIRA E PADILHA (2007) avaliaram *in vitro* a atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico do fruto maduro da *Eugenia uniflora* L. sobre linhagem de *Streptococcus mutans* e verificaram atividade antibacteriana do extrato, cuja CIM foi de 0,625%. A atividade antibacteriana, obtida no presente estudo, corrobora o estudo anterior, porém com CIM inferior (2,5%) para o mesmo extrato e microrganismo.

Ainda no mesmo trabalho, SOARES, OLIVEIRA E PADILHA (2007) confeccionaram e testaram *in vivo* o efeito, após uma semana, do uso do colutório contendo tal fitoterápico sobre indicadores de saúde bucal em portadores de aparelho ortodôntico. Os resultados obtidos, referentes à aplicação do colutório de pitanga a 2%, foram significativamente eficazes na redução dos níveis de *Streptococcus mutans* presentes na cavidade dos participantes, bem como na diminuição do índice de sangramento gengival (ISG). O Índice de Higiene Oral Simplificado (IHO-S) também apresentou redução após o uso do colutório, porém não significante ao teste estatístico.

Para o óleo essencial da folha da *Eugenia uniflora* L., os dados obtidos não demonstraram atividade antibacteriana sobre todas as linhagens testadas, estando de acordo com PEREIRA *et al.* (2006) que, ao realizarem um estudo *in vitro* utilizando o método de difusão em ágar, também não encontraram atividade antibacteriana do óleo essencial da folha da *Eugenia uniflora* puro e suas diluições sobre *Streptococcus mutans*.

DISCUSSION

Upon evaluating the antibacterial activity *in vitro* of *Eugenia uniflora* L. (pitanga) over bacteria which form dental biofilm some satisfactory results were obtained for the hydroalcoholic extracts in the present paper. Such hydroalcoholic extracts were produced starting from the mature and green fruit, as well as from the infusion of *pitanga* fresh leaf. The essential oil of *pitanga* leaf did not present antibacterial activity.

The hydroalcoholic extract of *pitanga* mature fruit presented antibacterial activity over bacteria used in this research in which the Best results were obtained with respect to the kins of *Streptococcus oralis*, which presented MIC of 0,15625%. The *Streptococcus sanguis* presented MIC of 0,3125% and the *Streptococcus mutans* and *Streptococcus salivarius* presented seemingly susceptibility to this phitotherapeutic with MIC of 2,5%. Less satisfactory results were obtained over the kin of *Streptococcus mitis*, which only the first dilution of extract (10%) inhibited this microorganism.

SOARES; OLIVEIRA; PADILHA (2007) evaluated *in vitro* the antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of the *Eugenia uniflora* L. mature fruit over the kin of *Streptococcus mutans* and observed antibacterial activity of extract which MIC was 0,625%. The antibacterial activity, obtained in this study, corroborates with the previous study, however with inferior MIC (2,5%) for the same extract and microorganism.

Yet in the same study, SOARES; OLIVEIRA; PADILHA (2007) simulated and tested *in vivo* the effect, after a week, the use of the colutoris containing such phitotherapeutic over indicators of mouth health in users of braces. The results obtained referring to the application of *pitanga* colutoris at 2% were significantly efficient in the diminishing of *Streptococcus mutans* levels presented in the cavity of the participants, as well as in the diminishing of the Gingival Bleeding Index (GBI). The Simplified Oral Hygiene Index (SOHI) also presented reduced levels after the use of colutoris, however it is not relevant for the statistic test.

The data obtained about the essential oil of *Eugenia uniflora* leaf did not demonstrate antibacterial activity over all the kins tested. According to PEREIRA *et al.* (2006) performed a study *in vitro* using the method of difusion in ágar and did not find antibacterial activity of essential oil in pure *Eugenia uniflora* leaf and their dilutions over *Streptococcus mutans*.

The unsatisfactory result for the oil, in the present study, is opposite to the one found by DRUMOND *et al.* (2004), in which they evaluated the antibacterial activity of essential oil of *Eugenia uniflora*

O resultado insatisfatório para o óleo, no presente estudo, é contrário ao achado por DRUMOND *et al.* (2004), onde avaliaram a atividade antibacteriana do óleo essencial da folha da *Eugenia uniflora* L. sobre *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus casei*, observando que tal fitoterápico inibiu o crescimento de todas essas bactérias. No entanto, se forem comparadas às concentrações do óleo em ambos os trabalhos verifica-se que no estudo de DRUMOND *et al.* (2004) a concentração inibitória mínima foi 25% do óleo frente ao *S. mutans* e *L. casei* e 50% frente às demais bactérias, já no presente estudo as concentrações testadas foram iguais e inferiores a 10%, justificando o resultado negativo para sua atividade antibacteriana.

DRUMOND *et al.* (2004) realizaram um estudo com o intuito de verificar a ação antibacteriana do óleo essencial da folha da pitanga a 2% na desinfecção de escovas dentárias contaminadas *in vitro* por linhagem de *Streptococcus mutans*, e obtiveram bons resultados, verificando redução significativa do número de UFC/mL desse microorganismo quando comparado ao controle negativo (água destilada). Em estudo posterior, OLIVEIRA, SOARES e PADILHA (2007), avaliaram a eficácia do uso de spray de óleo essencial da folha da *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) a 2% na descontaminação de escovas dentárias contaminadas pelo *Streptococcus mutans*, porém *in vivo*. Os resultados desse estudo mostraram que houve uma redução significativa ($p=0,01$) de UFCs/mL de *Streptococcus mutans* quando do uso do spray contendo a pitanga em relação ao controle negativo (água destilada).

Com o extrato hidroalcoólico do fruto verde da pitanga, os ensaios da atividade antibacteriana realizados foram os que produziram menor inibição sobre as bactérias testadas em relação aos demais fitoterápicos. Foram obtidas CIM de 5% para as linhagens de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* e *Streptococcus sanguis*. O microorganismo mais sensível foi o *Streptococcus oralis* (CIM do extrato de 0,625%) e o *Streptococcus mitis* se mostrou sensível apenas na primeira diluição, 10% do fitoterápico (Tabela 3 e 6).

O infuso da folha fresca da pitanga foi o fitoterápico que melhor exerceu a ação antibacteriana sobre as linhagens. Os *Streptococcus sanguis* e *Streptococcus oralis* foram os microrganismos que apresentaram maior sensibilidade e cuja inibição do crescimento ocorreu até a última diluição (0,15625%). Já os *Streptococcus mitis* e *Streptococcus salivarius* foram os menos sensíveis, com CIM de 5%. O *Streptococcus mutans* foi inibido pelo infuso até sua concentração de 2,5% (Tabelas 4 e 6).

Não foram encontrados estudos na literatura que fizessem uso do extrato hidroalcoólico do fruto

L. leaf over *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Lactobacillus casei*. It is relevant to mention that the phitotherapeutic herein cited inhibited the growth of all bacteria. However, if one compares them to the concentration of oil in both studies formerly referred to, one observes that in DRUMOND *et al.*'s study (2004) the minimal inhibitory concentration was 25% of the oil with respect to the *S. mutans* e *L. casei* and 50% with respect to the other bacteria. On the other hand, the present study the tested concentrations were equal or inferior to 10%, thus this number justifies the negative result for its antibacterial activity.

DRUMOND *et al.* (2004) performed a study aiming to verify the antibacterial action of essential oil of *pitanga* leaf at 2% in the cleansen of toothbrushes contaminated *in vitro* by kin of *Streptococcus mutans*, and obtained good results by verifying significant diminishing in the number of CFU/mL of this microorganism when compared to the negative control (distilled water). In a later study, OLIVEIRA; SOARES; PADILHA (2007), evaluated the efficiency of essential oil of *Eugenia uniflora* L. (*pitanga*) in spray at 2% in the decontamination of toothbrushes contaminated by *Streptococcus mutans*, however *in vivo*. The results of this study demonstrated that there was a relevant diminishing ($p=0,01$) of CFUs/mL of *Streptococcus mutans* in the use of spray containing *pitanga* in relation to the negative control (distilled water).

With the hydroalcoholic extract of *pitanga* green fruit, the experiment of antibacterial activity performed were the one that produced minor inhibition over the tested bacteria in relation to the other phitotherapics. It was obtained MIC offor the kins of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius* and *Streptococcus sanguis*. The most sensitive microorganism was the *Streptococcus oralis* (MIC of extract of 0,625%) and the *Streptococcus mitis* seemed sensitive only in the first dilution, 10% of the phitotherapico (Tables 3 and 6).

The infusion of *pitanga* fresh leaf was the phitotherapeutic that better executed the antibacterial action over the kins. The *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus oralis* were the microorganisms that presented major sensibility and which inhibition of the growth occurred until the last dilution (0,15625%). On the other hand the *Streptococcus mitis* and *Streptococcus salivarius* were the less sensitive, with MIC of 5%. The *Streptococcus mutans* was inhibited by the infusion until its concentration of 2,5% (Tables 4 and 6).

It was not found any study in the theoretical basis that made use of neither hydroalcoholic extract of

Tabela 6 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos fitoterápicos testados expressa em porcentagem (%). Realizado no Laboratório de Produtos Químicos Naturais (LQPN) do Centro de Ciências Exatas e da Natureza. João Pessoa, Paraíba, Brasil, 2007.

Material	Forma de extração	CIM obtida sobre as linhagens utilizadas em %				
		<i>S. mutans</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. oralis</i>
Clorexidina		3,125	3,125	6,25	3,125	3,125
<i>Pitanga</i>	extrato hidroalcoólico do fruto maduro	2500	312,5	10,000	2,500	156,25
	extrato hidroalcoólico do fruto verde	5,000	5,000	10,000	5,000	625
	infuso da folha fresca	2,500	156,25	5,000	5,000	156,25
	óleo essencial da folha fresca	-	-	-	-	-

verde ou do infuso da folha fresca da *Eugenia uniflora* L. para testes de atividade antibacteriana sobre bactérias cariogênicas, justificando a ausência de trabalhos para discussão dos resultados sobre tais fitoterápicos.

Ao se comparar estudos com plantas é evidente a dificuldade de avaliação entre os resultados em virtude da atuação das diversas variáveis que vão desde os aspectos edáficos - climáticos que exercem influência na composição química, como o estágio do desenvolvimento do vegetal quando da coleta, parte da planta estudada, forma de preparar o material para estudo, até os protocolos seguidos nos experimentos (AURICCHIO; BACCHI, 2003).

Desse modo, faz-se necessário a realização de estudos posteriores, com amostras maiores e coletas da pitanga de diversas localidades e épocas do ano, a fim de pesquisar o efeito dessa planta, bem como se as variáveis influenciam na sua ação.

Mesmo após a determinação do potencial antimicrobiano de uma planta, descobertos em estudos fitoquímicos prévios, não necessariamente serão obtidos resultados eficazes em estudos clínicos. Por isso, é de fundamental importância a avaliação do fitoterápico no contexto etno-cultural das comunidades, para que sejam evidências seguras e apropriadas para estabelecimento da relação dose-efeito procurado (AURICCHIO; BACCHI, 2003).

Portanto, nas condições desse estudo, concluiu-se que: (1) os extratos hidroalcoólicos produzidos a partir do fruto verde e maduro, bem como do infuso da folha fresca da pitanga apresentaram atividade antibacteriana

the green fruit nor of the infusion of *Eugenia uniflora* L. fresh leaf for tests of antibacterial activity over cariogenic bacteria. Thus, this fact justifies the lack of rationale reference for discussion of results over such phitotherapics.

By comparing studies with herbs is relevant the difficulty of evaluation among the results due to diverse variables which go from the deific aspects – climatic that execute influence over the chemical composition, such as the stage of development of the herb in collect period, part of the analyzed herb, form of preparation of the material to be examined – to the protocols followed in the experiment (AURICCHIO; BACCHI, 2003).

On being so, it is relevant future studies containing more samples and collect of *pitanga* from different places and stations of the year in order to examine the effect of this herb, as well as analyze the variables that influence in its action.

Even after the determination of the antimicrobiotic potential of a herb, some previous discoveries in phitochemical studies will not necessarily obtain efficient results in clinical investigation. That is why it is very important to evaluate the phitotherapic in the etnic-cultural context of the commnities, so that the relationship between a given dose-effect is performed properly and safely (AURICCHIO; BACCHI, 2003).

Thus, this paper concludes that: (1) The hydroalcoholic extracts produced starting from mature and green fruit, as well as the infusion of *pitanga* fresh leaf presented antibacterial activity over kins of bacteria which form the tested dental biofilm; (2) the essential oil

sobre as linhagens de bactérias formadoras do biofilme dental testadas; (2) o óleo essencial da folha da pitanga não apresentou ação antibacteriana nas concentrações igual e inferiores a 10%; (3) o infuso da folha fresca da pitanga foi a forma de extração que obteve maiores valores de CIM; (4) o *Streptococcus oralis* foi o mais sensível diante dos fitoterápicos testados, enquanto que o *Streptococcus mitis* se mostrou o mais resistente.

of *pitanga* leaf did not present any antibacterial action in the concentration equal or inferior to 10%; (3) the infusion of *pitanga* fresh leaf was the form of extraction that obtained the major values of M; (4) the *Streptococcus oralis* was the most sensitive of the tested phitotherapics, while the *Streptococcus mitis* seemed to be the most resistant.

REFERÊNCIAS

References

- AURICCHIO MT, BACCHI EM. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 62(1): 55 – 6, 2003. Disponível em: <<http://www.ial.sp.gov.br/publicacao/revista/2003/n1/940.pdf>>. Acesso em: 07/ maio/ 2007.
- BARROS VMR, ITO IY, AZEVEDO RVP, MORELLO D, ROSATELI PA. Estudo comparativo da eficiência de três métodos de anti-sepsia intrabucal na redução do número de estreptococos do sulco gengival. *Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo*, 12(3):201-206, 1998.
- BRAGA R. *Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará*. 2. ed. Fortaleza: Imprensa oficial de Fortaleza. 1960.
- BUISCHI YP. Promoção de saúde bucal na clínica odontológica. São Paulo: Artes Médicas, 2000.
- DRUMOND MRS, LEAL C, OLIVEIRA CB, PAULO MQ, PADILHA WVN. Ação da *Eugenia uniflora* L. (pitanga) *in vitro* na microflora cariogênica e desinfecção de escovas dentárias. *Brazilian Oral Research* (Anais do 23ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica), 20(sn):167-167, 2006. Disponível em: < www.sbpqo.org.br/resumos/2006/Pa.pdf >. Acesso em: 07/ maio/ 2007.
- DUARTE S, KOO H, BOWEN WH, MITSUE FH, CURY JA, IKEGAKI M et al. Effect of a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and adherence of mutans streptococci. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(4):527-531, 2003.
- FINE DH, FURGANG D, BARNETT ML, DREW C, STEINBERG L, CHARLES CH et al. Effect of an essential oil-containing antiseptic mouthrinse in plaque and salivary streptococcus mutans levels. *Journal of Clinical Periodontology*, 27(3):157-161, 2000.
- GEBRAN MP, GEBERT APO. Controle químico e mecânico da placa bacteriana. *Tuiuti Ciência e Cultura*, 26(3): 45-57, 2002.
- ITO IY, TIRAPELLI C. Avaliação do efeito de quatro anti-sépticos orais no nível de estreptococos mutans na saliva *in vivo*. *Revista da Associação Brasileira de Odontologia*, 11(1): 47-52, 2003.
- JARDIM OS, JARDIM EGJ. Influência da remoção mecânica da placa bacteriana associada ao uso diário de solução fluoretada. *Revista Gaúcha de Odontologia*, 46(2): 79-84, 1998.
- KIYONO RH, SANTOS MAA, GAIOTTO MV, SANTOS MAA, MOS EN. Grau de sensibilidade de anaeróbios a antimicrobianos. *Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas*, 47(1): 961-964, 1993.
- LAKATOS EM, MARCONI MA. *Fundamentos de metodologia científica*. 3. ed. São Paulo: Atlas, 1995.
- LIMA VLAG, MELO EA, LIMA DES. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. *Scientia Agrícola*, 59(3): 447-450, 2002.
- LIMBERGER RP, APEL MA, SOBRAL M, SCHAPOVAL ES, HENRIQUES AT. Investigação da atividade antimicrobiana do óleo volátil de espécies da família Myrtaceae. *Revista Brasileira de Farmácia*, 79(Sn): 49-52, 1998.
- LOESCHE WJ. *Cárie dental: uma infecção tratável*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1993.
- MALTZ M. Cárie dental: Fatores relacionados. In: PINTO, V. G. *Saúde bucal coletiva*, 4. ed. São Paulo: Santos, 2000.
- MATOS FJA. *Farmácias Vivas*. Fortaleza: EUFC, 1991.
- MENDES MMSG, ZENÓBIO EG, PEREIRA OL. Agentes químicos para controle de placa bacteriana. *Revista Periodontia*, 5(5): 253-256, 1995.
- MONFRIN RCP, RIBEIRO MC. Avaliação *in vitro* de anti-sépticos bucais sobre a microbiota da saliva. *Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas*, 54(5): 400-407, 2000.
- OLIVEIRA CB, SOARES DGS, PADILHA, WVN. Estudo *in vivo* sobre a eficácia da descontaminação de escovas dentárias pelo uso do spray de óleo essencial da *Eugenia uniflora* L. (Pitanga). *Brazilian Oral Research* (Anais da 24ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica), 21(sn): 53-53, 2007.
- SOARES DGS, OLIVEIRA CB, PADILHA WVN. Avaliação *in vivo* de colutório com extrato de *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) sobre indicadores de saúde bucal. *Brazilian Oral Research* (Anais da 24ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica), 21(sn): 138-138, 2007. Disponível em: <<http://www.sbpqo.org.br/resumos/2007/129-161%20ic.pdf>>. Acesso em: 07/ maio/ 2007.
- PEREIRA JV. Estudos com o extrato da *Punica granatum* Linn. (romã): efeito antimicrobiano *in vitro* e avaliação clínica de um dentifício sobre microrganismos do biofilme dental. 2002. [Tese de Doutorado] Universidade Federal da Paraíba e Universidade Federal da Bahia, João Pessoa, 2002. 88f.
- PEREIRA DFA, CANETTIERI ACV, SILVA PV, RANGEL RN, KHOURI S. Efeito antimicrobiano de óleos essenciais: *Eugenia uniflora*, *Thymus vulgaris* e *Cymbopogon citratus*. *Brazilian Oral Research* (Anais da 24ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica), 20(sn): 97, 2006. Disponível em: <<http://www.sbpqo.org.br/resumos/2006/lb.pdf>>. Acesso em: 07 maio 2007.
- RAMOS MEB, SOVIERO V, MONTE ALTO LA, MIASATO JM, SOUZA I. Conveniências e controvérsias da clorexidina na prática odontológica. *Revista da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro*, 3(1):8-13, 1997.
- SAXENA VK, SINGHAL M. Novel prenylated flavonoid from stem of *Pithecellobium dulce*. *Fitoterapia*, 70(sn): 98-100, 1999.
- SCHAPOVAL EES, SILVEIRA SM, MIRANDA M, ALICE CB, HENRIQUES AT. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L. *Journal Ethnopharmacol*, 44(3):137-142, 1994.
- SIMÕES CMO, MENTZ LA, SCHENKEL EP, IRGANG BE, STEHMANN J R. *Plantas de Medicina Popular do Rio Grande do Sul*. 3. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1989.
- VINHOLIS AHC, GONÇALVES PC, MARCANTONIO RAC, MARCANTONIO JUNIOR E. Mecanismo de ação da clorexidina. *Revista Periodontia*, 5(3):281-283, 1996.

CORRESPONDÊNCIA

Correspondence

Cibele Braga de Oliveira
Rua Maria Facunda de Oliveira Dias, 90, apt.º 701, Brisamar
58033-100 João Pessoa – Paraíba – Brasil

E-mail
cibeleodonto@yahoo.com.br
rebrasa@ccs.ufpb.br