



Potencial antimicrobiano de seis plantas do semiárido paraibano contra bactérias relacionadas à infecção endodôntica

Eveline Angélica Lira de Souza Sales Rocha¹; Anne Virgynnia Oliveira Rolim de Carvalho¹; Susana Régis Alves de Andrade²; Ana Cláudia Dantas de Medeiros³; Dilma Maria de Brito Melo Trovão⁴; Edja Maria Melo de Brito Costa^{3,*}.

¹Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil

²Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil

³Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil.

⁴Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil

RESUMO

Com o aumento dos microrganismos resistentes às substâncias antimicrobianas já conhecidas, vários extratos de plantas medicinais foram testados com a finalidade de procurar novos compostos com atividade antimicrobiana reconhecida. Assim este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de diferentes extratos vegetais em bactérias relacionadas à infecção endodôntica. Foram testados os extratos hidroalcoólicos das espécies *Syderoxyllum obtusifolium* Roem e Schult (quixabeira), *Bauhinia forficata* Linn (mororó), *Anadenanthera colubrina* Brenan (angico), *Spondias tuberosa* Arruda (umbuzeiro), *Tabebuia pentaphylla* Vell. (ipê rosa) e *Guapira graciliflora* Mart. (joão-mole), contra o *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Foram realizados os ensaios antimicrobianos pela técnica do disco difusão em ágar e pelo método de microdiluição em caldo. Todos os extratos analisados apresentaram atividade antimicrobiana contra pelo menos uma espécie bacteriana. Os melhores resultados foram encontrados com *T. pentaphylla* Vell e *G. graciliflora* Mart, apresentando atividade contra todas as cepas testadas, destacando-se a atividade de *T. pentaphylla* Vell frente a *S.aureus* na concentração de 0,78µl/µl e da casca de *G. graciliflora* Mart frente a *E.faecalis* na concentração de 6,25µl/µl. Os resultados sinalizam o potencial antimicrobiano dessas plantas, podendo ser promissoras para estudos de desenvolvimento de novos produtos de uso endodôntico.

Palavras-Chave: Plantas Medicinais. Extratos Vegetais. Atividade Antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

As infecções endodônticas persistentes, resultantes da resistência bacteriana às substâncias utilizadas no tratamento endodôntico, mostra a necessidade em se buscar novas moléculas antimicrobianas a partir de outras fontes, seja natural ou sintética (Nair et al., 1990, Siqueira Jr., 2001, Leitão et al., 2006, Silva et al., 2007, Coutinho et al., 2008). As cepas resistentes já identificadas nas infecções endodônticas incluem *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella spp.*, *Campylobacter rectus.*, *Streptococci (Streptococcus mitis, Streptococcus gordonii, Streptococcus anginosus, Streptococcus oralis)*, *Lactobacilli (Lactobacillus paracasei and Lactobacillus acidophilus)*, *Staphylococci, E. faecalis, Olsenella uli, Parvimonas micra, Pseudoramibacter alactolyticus, Propionibacterium spp., Actinomyces spp., Bifidobacterium spp. e Eubacterium spp.* (Narayanan & Vaishnavi, 2010).

Apesar do preparo químico-mecânico ou biomecânico assumir importante papel no sucesso da terapia endodôntica (Mônica & Fröner, 2006), a utilização de uma medicação intracanal com ação antimicrobiana torna-se necessária para potencializar a desinfecção do sistema de canais radiculares (Tanomaru et al., 2003; Assed, 2005). Vários trabalhos têm sido efetuados na tentativa de se obter um medicamento que elimine as bactérias ou inative suas endotoxinas em dentes com lesão periapical crônica. Dentre os medicamentos intracanaís utilizados destaca-se o hidróxido de cálcio, o qual tem sido a primeira escolha pela maioria dos endodontistas (Assed, 2005; Pereira et al., 2009). Contudo, estudos mostram que o hidróxido de cálcio é pouco efetivo sobre algumas cepas bacterianas, particularmente sobre o *Enterococcus faecalis* (Evans et al., 2002; Kayaoglu & Orstavik, 2004; Fernandes et al., 2006; Gomes et al., 2006; Onçag et al., 2006; Sathorn et al., 2007), microrganismo mais comumente isolado de dentes com infecções pós-tratamento endodôntico (Sedgley et al., 2005).

Segundo Tirali et al. (2009), o *Staphylococcus aureus* está entre as espécies mais resistentes encontradas em canais radiculares infectados, sendo frequentemente

Autor correspondente: Edja Maria Melo de Brito Costa - Programa de Pós-graduação em Odontologia - Universidade Estadual da Paraíba - e-mail: edjacosta@gmail.com

associada a falhas do tratamento endodôntico. Apesar de *Escherichia coli* não ser comumente encontrada em canais radiculares com lesões persistentes, estudos encontraram *E. coli* em canais radiculares com lesões periapicais (Geibel et al., 2005; Ercan et al., 2006; Gajan et al., 2009).

Nos últimos anos tem sido observado um crescente interesse da comunidade científica pelas plantas medicinais e pela fitoterapia, por apresentarem potenciais terapêuticos e econômicos, visados especialmente pela indústria farmacêutica, que realiza a prospecção de novos produtos, com menos efeitos indesejáveis do que os fármacos já existentes (Martínez Guerra et al., 2000, Brandão et al., 2006, Lima et al., 2006, Medeiros et al., 2007, Hendry et al., 2009). Diante desta premissa, este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de diferentes extratos vegetais produzidos a partir de plantas medicinais do semiárido brasileiro contra microrganismos associados à infecção endodôntica, utilizando o método da disco difusão em ágar e a técnica da microdiluição.

MATERIAL E MÉTODO

Material vegetal

Foram coletadas folhas e cascas de espécies de plantas encontradas no semiárido brasileiro, sendo elas: folhas e cascas de *Syderoxylum obtusifolium* Roem e Schult (quixabeira), *Tabebuia pentaphylla* Vell. (ipê rosa) e *Guapira graciliflora* Mart. (joão-mole) e folhas de *Bauhinia forficata* Linn (mororó), *Anadenanthera colubrina* Brenan (angico) e *Spondias tuberosa* Arruda (umbuzeiro). O material foi limpo, acondicionado em sacos de papel e seco em estufa de circulação de ar a 40 °C. Os espécimes testemunho encontram-se depositados na coleção do Herbário Manuel de Arruda Câmara (ACAM) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campus I, Campina Grande, Paraíba: *Syderoxylum obtusifolium* Roem e Schult (n° 233/ACAM), *Tabebuia pentaphylla* Vell. (n° 679/ACAM), *Guapira graciliflora* Mart. (n° 907/ACAM), *Bauhinia forficata* Linn (n° 130/ACAM), *Anadenanthera colubrina* Brenan (n° 667/ACAM), *Spondias tuberosa* Arruda (n° 176/ACAM).

Preparação dos Extratos

Para obtenção dos extratos foi utilizado o processo de maceração por cinco dias, em temperatura ambiente, utilizando como solvente o álcool etílico 70% em uma proporção de 200g de planta seca moída para 1L de álcool.

Atividade Antimicrobiana

Preparação do Inóculo

Os microrganismos utilizados foram *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922).

O inóculo microbiano foi padronizado em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 625nm de modo a obter a transmitância de 85%.

Método Difusão em Ágar

A suspensão bacteriana preparada foi usada para inocular as placas de ágar Müeller Hinton, com auxílio de swab estéril pela técnica do esgotamento. Foram adicionados seis discos de papel estéreis por placa. Cada disco recebeu 10µL do extrato. A clorexidina 0,12% foi testada utilizando o mesmo volume. As placas foram mantidas em estufa de cultura a uma temperatura de 37±1°C por 24 horas. Os halos de inibição produzidos foram medidos com o auxílio de um paquímetro digital.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos vegetais foi realizada através da técnica da microdiluição em caldo. Inicialmente, foram distribuídos 100µL de caldo Müeller Hinton nos orifícios das placas de microdiluição contendo 96 cavidades. A concentração do meio de cultura utilizada foi de 0,042g/ml. Em seguida, foram distribuídos 100µL do extrato bruto no primeiro orifício da placa, e depois realizadas diluições seriadas, a partir da retirada de uma alíquota de 100µL da cavidade mais concentrada para a cavidade sucessora, obtendo concentrações de 0,50µl/µl a 1,58µl/µl. Nos orifícios de cada coluna foram dispensadas alíquotas de 10µL do inóculo correspondente a cada cepa ensaiada. Como controle negativo, foi verificada viabilidade das cepas ensaiadas, com a inoculação da suspensão bacteriana apenas no meio de cultura. Ainda, realizou-se controle positivo a partir da utilização da clorexidina a 0,12%. As microplacas foram incubadas a 37°C±1°C, durante 24 horas. O crescimento bacteriano foi indicado pela adição de 10µl da solução aquosa de resazurina a 0,01%, com incubação a 37°C±1°C. As bactérias viáveis foram reduzidas da coloração azul para a coloração rosa. A CIM foi definida como a menor concentração que inibiu o crescimento bacteriano visualizado pela mudança de coloração produzida pela resazurina.

Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Uma alíquota da CIM e duas concentrações anteriores a esta, além do controle positivo, foram plaqueadas em meio ágar Müeller Hinton, desprovido de qualquer antimicrobiano. Após 24 horas de incubação a 37°C±1°C, as leituras foram realizadas, sendo considerada CBM a menor concentração do extrato que impediu o crescimento microbiano visível.

RESULTADOS

Todos os extratos analisados apresentaram atividade antimicrobiana contra pelo menos uma espécie bacteriana, com destaque para a *T. pentaphylla* Vell, apresentando a técnica da microdiluição, uma expressiva sensibilidade. Testou-se a atividade do solvente álcool 70% e constatou-se que não possui potencial antimicrobiano contra as cepas deste estudo.

Pela técnica difusão em ágar verificou-se atividade antimicrobiana de cinco tipos de extratos, contra pelo menos uma das espécies bacterianas estudadas. O extrato

da folha de *T. pentaphylla* Vell. foi o único que apresentou atividade contra as três espécies de bactérias. Os extratos de *S. obtusifolium* Roem et Schult., *B. forficata* Linn, *S. tuberosa* Arruda e o extrato da casca de *G. graciliflora* Mart. não apresentaram nenhum tipo de atividade antimicrobiana quando utilizado o método de difusão em ágar, que tem limitações para substâncias com baixa difusibilidade no meio de cultura. (Tabela 1).

Tabela 1: Média dos halos de inibição (mm) dos extratos hidroalcoólicos, pela técnica difusão em ágar.

EXTRATO	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia Coli</i>
	Zonas de inibição (mm)	Zonas de inibição (mm)	Zonas de inibição (mm)
<i>S. obtusifolium</i> Roem et Schult.*	0,0	0,0	0,0
<i>S. obtusifolium</i> Roem et Schult.**	0,0	0,0	0,0
<i>B. forficata</i> Linn*	0,0	0,0	0,0
<i>A. colubrina</i> Brenan*	8,3	0,0	0,0
<i>S. tuberosa</i> Arruda*	0,0	0,0	0,0
<i>T. pentaphylla</i> Vell*	8,4	0,0	8,3
<i>T. pentaphylla</i> Vell**	10,0	7,3	13,2
<i>G. graciliflora</i> Mart*	0,0	0,0	0,0
<i>G. graciliflora</i> Mart.**	0,0	0,0	8,0
Clorexidina 0,12%	14,3	12,4	13,0

*Extrato da casca da planta/ **Extrato da folha da planta

Pela técnica da microdiluição em caldo todos os extratos analisados apresentaram atividade antimicrobiana contra o *S. aureus*. Por outro lado, o *E. faecalis* apresentou resistência apenas para *S. obtusifolium* Roem e Schult. *E. coli* apresentou resistência ao mesmo extrato vegetal referido, no entanto, também apresentou resistência ao extrato de *B. forficata* Linn (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição da CIM e CBM dos extratos vegetais contra as espécies bacterianas estudadas.

Extrato	<i>S. aureus</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>E. coli</i>	
	CIM μ l/ μ l	CBM μ l/ μ l	CIM μ l/ μ l	CBM μ l/ μ l	CIM μ l/ μ l	CBM μ l/ μ l
<i>S. obtusifolium</i> Roem et Schult.*	3,13	3,13	R	R	6,25	12,50
<i>S. obtusifolium</i> Roem et Schult.**	12,50	12,50	R	R	12,50	R
<i>B. forficata</i> Linn*	12,50	12,50	12,50	50,00	R	R
<i>A. colubrina</i> Brenan*	1,56	3,13	1,56	R	12,50	25,00
<i>S. tuberosa</i> Arruda*	3,13	6,25	0,78	R	1,56	3,13
<i>T. pentaphylla</i> Vell*	3,13	12,50	1,56	0,78	3,13	3,13
<i>T. pentaphylla</i> Vell**	0,78	0,78	1,56	3,13	1,56	3,13
<i>G. graciliflora</i> Mart*	12,50	50,00	6,25	6,25	6,25	25,00
<i>G. graciliflora</i> Mart**	12,50	25,00	12,50	25,00	12,50	25,00

*Extrato da casca da planta/ **Extrato da folha da planta/ R= Resistência

DISCUSSÃO

As pesquisas com produtos naturais na área da odontologia têm aumentado nos últimos anos devido à busca por novos produtos com maior atividade terapêutica, menor toxicidade, melhor biocompatibilidade e menor custo. Além disso, a aceitação popular da fitoterapia tem reforçado a importância de mais estudos nessa área, a fim de introduzir no mercado, apenas aqueles produtos comprovadamente eficazes e seguros (Agra, 2007; Oliveira, 2005).

Existem diversas técnicas para determinar a atividade antimicrobiana de extratos de plantas, e por esse motivo, há na literatura discrepâncias com relação aos métodos realizados para avaliação de atividade antimicrobiana utilizando as mesmas condições de experimento (Alves et al., 2008).

Segundo Andrews (2001), as CIM's determinadas pelo método da microdiluição em caldo são consideradas excelentes ferramentas para determinar a susceptibilidade dos organismos aos antimicrobianos e, portanto, usadas para julgar o desempenho de todos os outros métodos de susceptibilidade. Em estudo posterior, Alves et al. (2008) avaliando várias técnicas, observaram que o método de diluição em caldo foi a melhor opção para se determinar a atividade antimicrobiana. Esses estudos justificam os achados deste que observou de um modo geral, expressiva sensibilidade da técnica de microdiluição em caldo com os extratos vegetais testados.

Observou-se que os extratos obtidos da folha e casca da *S. obtusifolium* Roem e Schult não apresentaram resultados satisfatórios neste estudo, diferindo do estudo de Costa et al. (2010), em que detectaram atividade antimicrobiana da casca deste vegetal, nas concentrações de 100% e 50% contra o *E. faecalis*. Gobbo-Neto & Lopes (2007) descreveram esses fatores que podem coordenar ou alterar a taxa de produção de metabólitos secundários responsáveis pelas propriedades medicinais das plantas, sendo esses: sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, adição de nutrientes, altitude e poluição atmosférica.

O *A. colubrina* Brenan, nas duas técnicas utilizadas para avaliação antimicrobiana, apresentou expressiva atividade contra o *S. aureus*, corroborando os achados de Palmeira et al. (2010). Não foram encontrados trabalhos avaliando a atividade antimicrobiana da *T. pentaphylla* Vell., no entanto, os resultados encontrados neste estudo foram expressivos frente a todos os microorganismos na técnica de microdiluição, indicando que esta planta é promissora para o estudo de desenvolvimento de novos produtos de uso odontológico, com propriedade antimicrobiana. Estudos realizados com plantas da mesma família (Bignoniaceae) são encontrados na literatura referindo-se à utilização dessas plantas na medicina popular no tratamento de várias doenças. O potencial medicinal do gênero *Tabebuia* é destacado pela produção de uma naftoquinona (o lapachol), de fácil extração da serragem da madeira de várias espécies de ipês. Outros compostos fenólicos e flavonoides presentes nas plantas do gênero *Tabebuia* são relacionados à atividade antimicrobiana (Silva et al., 2003).

Novos estudos podem ser realizados avaliando o perfil fitoquímico das plantas avaliadas a fim de identificar

os metabólitos ativos, responsáveis pelo seu potencial antimicrobiano.

AGRADECIMENTO

Ao Programa de Incentivo à Pós-Graduação e Pesquisa (PROPESQ/UEPB) e ao Programa de Iniciação Científica UEPB/CNPq pelo suporte financeiro.

ABSTRACT

Antimicrobial potential of six plants from the semiarid zone of Paraíba State (Brazil) against bacteria related to endodontic infection

In the face of an increasing range of microorganisms known to be resistant to antimicrobial substances, various herbal extracts have been screened in order to find new compounds with recognized antimicrobial activity. In particular, this study was carried out to assess the antimicrobial activity of such extracts on bacteria related to endodontic infection. Hydroalcoholic extracts of the species *Syderoxylum obtusifolium* Roem and Schult (quixabeira), *Bauhinia forficata* Linn (mororó) *Anadenanthera colubrina* Brenan (angico), *Spondias tuberosa* Arruda (umbuzeiro), *Tabebuia pentaphylla* Vell. (ipê rosa) and *Guapira graciliflora* Mart. (joão-mole), were tested against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The antimicrobial assays were performed by the disk agar diffusion and broth microdilution methods. All extracts analyzed showed antimicrobial activity against at least one bacterial species. The best results were obtained with *T. pentaphylla* and *G. graciliflora*, which showed activity against all tested strains; specifically, that of *T. pentaphylla* against *S. aureus*, at a concentration of 0.78µL/µL, and of *G. graciliflora* bark against *E. faecalis*, at a concentration of 6.25µL/µL, should be highlighted. The results indicate that extracts of these plants may be promising for the study and development of new antimicrobials for endodontic use.

Keywords: Medicinal Plants. Plant extracts. Antimicrobial Activity.

REFERÊNCIAS

- Agra MF, Freitas PF, Barbosa-Filho JM. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn.* 2007;17(1):114-40.
- Alves EG, Vinholis AHC, Casemiro LA, Furtado NAJC, Silva MLA, Cunha WR, Martins CHG. Estudo comparativo de técnicas de *screening* para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. *Quím Nova.* 2008;31(5):1224-9.
- Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother.* 2001;48(1):5-16.
- Assed S. *Odontopediatria: bases científicas para a prática clínica.* São Paulo: Artes Médicas; 2005.
- Brandão MGL, Cosenza GP, Moreira RA, Monte-Mor RLM. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn.* 2006;16(3):408-20.
- Costa EMMB, Barbosa AS, Arruda TA, Oliveira PT, Dametto FR, Carvalho RA, Melo MD. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. *J Bras Patol Med Lab.* 2010;46(3):175-80.
- Coutinho HDM, Costa JGM, Siqueira-Junior JP, Lima EO. *In vitro* anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus-MRSA* strains. *Rev Bras Farmacogn.* 2008;18(Supl.0):670-5.
- Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J.* 2002;35(3):221-8.
- Ercan E, Dalli M, Yavuz İ, Özekinci T. Investigation of Microorganisms In Infected Dental Root Canals. *Biotechnol Biotechnol Eq.* 2006;20(2):166-72.
- Fernandes AV, Giro EMA, Costa CAS. Resposta dos tecidos periapicais de dentes de cães com necrose pulpar e reação periapical crônica ao tratamento endodôntico utilizando diferentes pastas obturadoras. *Rev Odontol UNESP.* 2006;35(1):29-39.
- Gajan EB, Aghazadeh M, Abashov R, Milani AS, Moosavi Z. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospect.* 2009;3(1):24-27.
- Geibel MA, Schu B, Callaway AS, Gleissner C, Willershansen B. Polymerase chain reaction-based simultaneous detection of selected bacterial species associated with closed periapical lesions. *Eur J Med Res.* 2005;10(8):333-8.
- Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários Quím Nova. 2007;30(2):374-81.
- Gomes BP, Vianna ME, Sena NT, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza Filho FJ. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine gel used as intracanal medicament. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006;102(4):544-50.
- Hendry ER, Worthington T, Conway BR, Lambert PA. Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1,8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. *J Antimicrob Chemother.* 2009;64(6):1219-25.
- Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004;15(5):308-20.
- Leitão SG, Castro O, Fonseca EN, Julião LS, Tavares ES, Leo RRT et al. Screening of Central and South American plant extracts for antimycobacterial activity by the Alamar Blue test. *Rev Bras Farmacogn.* 2006;16(1):6-11.

- Lima MRF, Luna JS, Santos AF, Andrade MCC, Sant'Ana AEG, Genet JP, Marquez B, Neuville L, Moreau N. Antibacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2006;105(1-2):137-47.
- Martínez Guerra MJ, Barreiro LM, Rodríguez MZ, Rubalcaba Y. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80 por ciento de *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal)/23. *Rev Cuba Plantas Med.* 2000;5(1):23-5.
- Medeiros KC, Monteiro JC, Diniz MFFM, Medeiros IA, Silva BA, Piuvezam MR. Effect of the activity of the Brazilian polyherbal formulation: *Eucalyptus globulus* Labill, *Peltodon radicans* Pohl and *Schinus terebinthifolius* Radd in inflammatory models. *Rev Bras Farmacogn.* 2007;17(1):23-8.
- Mônika CM, Fröner IC. A scanning electron microscopic evaluation off different root canal irrigation regimens. *Braz Oral Res.* 2006;20(3):235-40.
- Nair PN, Sjogren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod.* 1990;16(12):580-8.
- Narayanan LL, Vaishnavi C. Endodontic microbiology. *J Conserv Dent.* 2010;13(4):233-9.
- Oliveira AB, Almeida ER, Silva Filho AA. Estrutura química e atividade biológica de naftoquinonas de Bignaceas brasileiras. *Quím Nova.* 2005;13(4):302-7.
- Onçag O, Gogulu D, Uzel A. Efficacy of various intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* in primary teeth: an in vivo study. *J Clin Pediatr Dent.* 2006;30(3):233-7.
- Palmeira JD, Ferreira SB, Souza JH, Almeida JM, Figueiredo MC, Pequeno AS, Arruda TA, Antunes RMP, Catão RMR. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos hidroalcoólico de angico sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. *RBAC.* 2010;42(1):33-7.
- Pereira L, Nabeshima CK, Britto MLB, Pallotta RC. Avaliação do pH de substâncias utilizadas como medicação intracanal em diferentes veículos. *Rev Sul-Bras Odontol.* 2009;6(3):243-7.
- Sathorn C, Parashos P, Messer H. Antibacterial efficacy of calcium hydroxide intracanal dressing: a systematic review and metaanalysis. *Int Endod J.* 2007;40(1):2-10.
- Sedgley CM, Nagel AC, Shelburne CE, Clewell DB, Appelbe O, Molander A. Quantative real-time PCR detection of oral *Enterococcus faecalis* in humans. *Arch Oral Biol.* 2005;50(6):575-83.
- Silva JG, Souza IA, Higino JS, Siqueira-Junior JP, Pereira JV, Pereira MSV. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. *Rev Bras Farmacogn.* 2007;17(4):572-7.
- Silva MN, Ferreira VF, Souza MCBV. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na beta-lapachona e derivados. *Quím Nova.* 2003;26(3):407-16.
- Siqueira JF Jr. Etiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int Endod J.* 2001;34(1):1-10.
- Tanomaru JM, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LA. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. *Int Endod J.* 2003;36(11):733-9.
- Tirali RE, Turan Y, Akal N, Karahan ZC. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of NaOCl and Octenisept in elimination of endodontic pathogens. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(5):e117-20. DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.07.012.

Recebido em 07 de agosto de 2012

Aceito para publicação em 01 de abril de 2013

