



ANÁLISE DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE *PSIDIUM GUAJAVA L.* EM *CANDIDA ALBICANS*, *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* E *ESCHERICHIA COLI*.

*Cauane da Silva Teofilo*¹; *Cintia Berner Zocante*²; *Fausto Rodrigo Victorino*³; *Marcos Alessandro dos Santos Ribeiro*⁴

¹Acadêmica do Curso de Odontologia, UNICESUMAR, Maringá-PR. Bolsista PIBIC/UniCesumar

²Cirurgiã Dentista, formada pela UNICESUMAR, Maringá-PR.

³Orientador, Prof. Dr. do Curso de Odontologia, UNICESUMAR, Maringá-PR.

⁴Pós-doutorado do departamento de biotecnologia, UEM, Maringá-PR.

RESUMO: O presente estudo teve como objetivo testar a atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólico, metanólico e etanólico da *Psidium Guajava L.* (goiaba) frente aos microrganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, que por sua vez desempenham um importante papel na etiologia das patologias pulpar e periapicais. As extrações foram realizadas com solvente orgânico destilado e de grau P. A (etanol e metanol) e água destilada, na forma pura. Os extratos foram concentrados sob pressão reduzida em evaporador rotativo. Os ensaios antimicrobianos foram realizados através da técnica de difusão em ágar, com o inóculo dos respectivos microrganismos com turvação de 0,5 da escala de McFarland. O halo de inibição foi medido em milímetros. Para a análise dos resultados foi feito o teste Análise de Variância ANOVA seguido do Teste de Tukey, com índice de significância de 5%. Diante dos resultados concluiu-se que o extrato hidroalcoólico da *Psidium guajava L.* (goiaba) apresentou capacidade maior de inibição do que os extratos etanólico e metanólico respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: Psidium, Extratos vegetais, Ação antimicrobiana.

1 INTRODUÇÃO

Os microrganismos desempenham um importante papel na etiologia das patologias pulpar e periapical. São vários os microrganismos que compõem a cavidade bucal alguns se caracterizam por serem mais patogênicos, como o *S. aureus*, *E. coli* e a *C. albicans*. O *S. aureus* é um micro-organismo patogênico oportunista relevante na cavidade bucal, sendo frequentemente encontrada em abscessos periapicais e estomatites protéticas (PEREIRA 2009). A bactéria Gram-negativa *E. coli*, além de possuir diferentes fatores de virulência e gerar produtos e subprodutos tóxicos aos tecidos apicais e periapicais. A *C. albicans* é o fungo mais prevalente e patogênico da cavidade oral, são fungos oportunistas que habitam o corpo humano sem causar doença em indivíduos saudáveis. (SANTANA, 2013).

Além da instrumentação mecânica, o uso de irrigantes antibacterianos de forma generosa e de medicação intracanal, é importante para reduzir o número de bactérias no interior dos canais, e a associação dos métodos químico/mecânico, mostra-se mais efetiva para redução microbiana no interior dos canais.

A *Psidium guajava* (goiabeira) é uma árvore frutífera originária das Américas central e do Sul, cultivada em todos os países de clima tropical (MATOS, 1997). Esta espécie é reconhecida popularmente como medicinal, sendo utilizada contra cólicas e diarreias, tendo também ação diurética. Adicionalmente apresenta ainda atividade antimicrobiana e hipoglicemiante. Seus extratos têm mostrado, *in vitro*, atividade inibitória para diferentes microrganismos. A Universidade Federal da Paraíba, submeteu o extrato hidroalcoólico de *Psidium guajava* a bactérias gram-negativas, obtendo resultados promissores de inibição de crescimento bacteriano (CARVALHO 2002).

Holetz et al. (2002) encontraram ação antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das folhas de *Psidium Guajava L.* contra *C. albicans*, *S. aureus* e *E. coli*. Os resultados indicaram que as folhas desta



planta, poderiam ser utilizadas para tratar patologias causadas por tais microrganismos devido seu efetivo efeito antimicrobiano.

Apesar da utilização de plantas medicinais no tratamento Odontológico ser ainda pouco explorada, nas pesquisas com fitoterápicos o uso popular pode sugerir espécies potencialmente importantes, porém, faz-se necessário uma série de estudos, entre eles, a identificação de espécies com comprovada ação farmacológica e/ou substâncias biologicamente ativas. O uso de fármacos fitoterápicos na prática clínica, tratamento e prevenção de afecções de menor severidade vêm sendo reconhecido pelo SUS.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As extrações foram realizadas com solvente orgânico destilado e de grau P. A (etanol e metanol) e água destilada, na forma pura e em misturas binárias. Os extratos foram concentrados sob pressão reduzida em evaporador rotativo.

2.1 MATERIAL VEGETAL

As partes aéreas da espécie vegetal *Psidium Guajava* Linn foram coletadas no município de São Tomé (PR). As folhas foram secas a temperatura ambiente em lugar coberto e submetido à estufa por 2 dias para total remoção de água a 30 °C e moídas em moinho de facas.

2.1.1 Preparação e Fracionamento do Extrato Bruto por Extração Ácido-base

O material foi extraído com mistura binária de água destilada/etanol (30/70, v/v), metanol 100% e etanol 100%, a frio, por maceração exaustiva, obtendo-se os extratos brutos hidroetanólico, etanólico e metanólico.

2.2 MICRORGANISMOS E PREPARAÇÃO DOS INÓCULOS

Os testes foram realizados frente a bactérias fornecidas pelo laboratório de microbiologia do Centro Universitário de Maringá – Unicesumar, tendo sido utilizados os microrganismos: *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans*. Os inóculos foram obtidos a partir de culturas recentes dos microrganismos, preparando-se suspensões padronizadas pela turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland, em BHI enriquecido.

2.3 MEDIÇÃO DO HALO DE INIBIÇÃO

As placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton (bactérias) e Sabouraud (fungos) foram preparadas antecipadamente. Com um swab estéril, o inóculo dos respectivos microrganismos com turvação 0,5 da escala de MacFarland foi distribuído uniformemente sobre a superfície do ágar, deixadas em repouso em temperatura ambiente, por aproximadamente 3 minutos. Foram realizados 3 poços circulares de aproximadamente 6mm de diâmetro. Com o auxílio de uma seringa Centrix os extratos foram dispensados em cada poço identificados como A (extrato hidroalcolólico), B (etanólico) e C (metanólico). As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 48 horas. Após esse período foram medidos, em milímetros, os halos de inibição do crescimento, utilizando régua milimetrada. Para análise dos resultados, foi utilizado o teste estatístico ANOVA seguido do Teste de Tukey com índice de significância de 5%, com o auxílio do software Sisvar 5.6.



3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo três microrganismos foram testados frente a extratos hidroalcoólico, etanólico e metanólico de *Psidium Guajava L.*, identificados como: A, B e C respectivamente. Para as bactérias *E. coli* e *S. aureus*, foi utilizado como controle positivo (CP) a Clindamicina, e para o fungo *C. albicans* o Gluconato de Clorexidina 0,12%.

Tabela 1 - Inibição de crescimento de *S. aureus* por extratos da folha de *Psidium Guajava L.*

Amostra	Extrato A	Extrato B	Extrato C	CP
1	22	10	8	26
2	21	7	8	26
3	18	9	8	24
4	20	9	9	25
5	25	12	12	25
6	19	9	10	24
7	18	10	8	26
8	22	10	9	25
9	22	9	9	25
10	22	9	9	25
Média	20,9	9,4	9	25,2

*Halo de inibição medido em mm

**CP: controle positivo – Clindamicina

Fonte: Dados da pesquisa

Na Tabela 1, como pode-se observar, embora os extratos B (etanólico) e C (metanólico) também tenham apresentado atividade antimicrobiana, o extrato A (hidroalcoólico) apresentou resultados significativamente melhores.

Tabela 2 - Inibição de crescimento de *E. coli* por extratos da folha de *Psidium Guajava L.*

Amostra	Extrato A	Extrato B	Extrato C	CP
1	32	18	18	10
2	27	18	16	10
3	28	18	17	10
4	32	17	18	11
5	34	18	17	9
6	30	17	17	10
7	35	16	16	10
8	32	18	18	9
9	30	18	17	10
10	27	16	18	11
Média	30,8	17,4	17,2	10

*Halo de inibição medido em mm

**CP: controle positivo – Clindamicina

Fonte: Dados da pesquisa

Na Tabela 2, A bactéria testada foi inibida pelos três extratos ao qual foi submetida, sendo que o extrato A (hidroalcoólico) apresentou melhor atividade para *E. coli* com um diâmetro médio de halos de 30,8mm.



Tabela 3 - Inibição de crescimento de *C. albicans* por extratos da folha de *Psidium Guajava L.*

Amostra	Extrato A	Extrato B	Extrato C	CP
1	16	8	0	17
2	16	8	0	17
3	16	7	0	17
4	17	8	0	17
5	16	7	0	17
6	15	7	0	17
7	16	7	0	17
8	16	8	0	17
9	15	8	0	17
10	16	7	0	17
Média	15,9	7,5	0	17

*Halo de inibição medido em mm **CP: controle positivo – Gluconato de Clorexidina 0,12%

Fonte: Dados da pesquisa

Na Tabela 3, assim como nos outros microrganismos testados, o extrato hidroalcoólico foi o que apresentou melhor halo de inibição, porém diferente dos outros testes, o extrato C não apresentou atividade antimicrobiana para *Candida albicans*.

Os ensaios apresentados demonstram que todas as amostras de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, e *Candida albicans* estão sensíveis aos extratos hidroalcoólico e etanólico da *Psidium guajava L.*, e apenas o extrato metanólico não produziu halo de inibição para *Candida albicans*. De acordo com os dados estatísticos obtidos através da Tabela de análise variância seguido do teste de Tukey, o extrato hidroalcoólico demonstrou resultados mais promissores, quando comparado aos outros em todas as amostras analisadas. O microrganismo com maior sensibilidade a esse extrato com uma média de halo de inibição de 30,8mm foi a bactéria gram-negativa *E. coli*, seguido do *S. aureus* com média de 20,9mm e o fungo *C. albicans* com 15,9mm.

Na análise realizada por Okamoto (2010) extrato glicólico de *Psidium guajava* mesmo em diferentes concentrações apresentou atividade antimicrobiana para *E.coli* e *S. aureus*, porém, não apresentou atividade antifúngica nas duas diluições ensaiadas.

Maia et al. (2009) demonstrou o efeito sinérgico, *in vitro* entre o extrato da goiabeira e antimicrobianos como norfloxaxina e cefalexina na inibição de cepas multirresistentes de *S. aureus* de origem humana e bovina.

Fonseca e Botelho (2010) avaliaram três espécies do gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis*), o extrato bruto das folhas de *Psidium guajava L.* demonstrou atividade antimicrobiana *in vitro*, reforçando a indicação popular da planta também como antisséptica.

Em outro estudo realizado Alves (2006) o extrato da folha da goiabeira apresentou excelentes resultados, inibindo o crescimento de todas as cepas do gênero *Candida* analisadas.

Garcia (2010) constatou uma CMM (concentração microbicida mínima) de 46,75µg/ml do extrato de *Psidium guajava L.* contra isolados de *S. aureus* resultantes de casos de infecções hospitalares. O extrato obteve ação antimicrobiana contra 84,6% dos isolados.



4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados alcançados no presente estudo, estão coerentes com o histórico da atividade antimicrobiana da espécie vegetal em questão. Porém vale ressaltar que as análises antimicrobianas dos estudos citados acima foram realizadas com diferentes metodologias. Fatores como: concentração do extrato, origem da planta, acidez do solo, época de colheita, método aplicado, microrganismo e cepa utilizada no teste, dentre outros, colaboram para variabilidade nos resultados referente a ação inibitória de extratos de plantas.

REFERÊNCIAS

- ALVES, P. M. Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação in vitro **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 16(2): 192-196, Abr./Jun. 2006.
- CARVALHO, A. A. T et al. Atividade Antimicrobiana *in vitro* de extratos hidroalcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre bactérias Gram-negativas. **Acta Farm. Bonaerense**, João Pessoa, v.21, n. 4, p. 255-258, abr. 2002.
- FENNER, R et al. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Porto Alegre, v. 42, n. 3, p. 369-394, jul./set. 2006.
- FONSECA, J. F.; BOTELHO, A. C. F. Atividade antifúngica do extrato de folhas de *Psidium guajava* sobre leveduras do gênero *Candida*. **Rev Fac. Odontol.**, Porto Alegre, v. 51, n. 1, p. 24-26, jan./abr. 2010
- GARCIA, C. S. **Ação antimicrobiana in vitro de extratos hidroetanólicos de plantas sobre *Staphylococcus aureus* MRSA e MSSA**. 2010. Dissertação. (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, 2010.
- HOLETZ, F. B et al. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for treatment of infectious diseases. **Mem. Inst., Oswaldo Cruz.**, Maringá, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, out. 2002.
- MAIA, R. R., Estudo do efeito antimicrobiano do extrato da goiabeira (*Psidium guajava* Linn) sobre *staphylococcus aureus* multirresistentes. **ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.05, 36-40, 2009.
- MATOS, F. J. A. As plantas das farmácias vivas; álbum de gravuras para identificação das principais plantas medicinais do projeto farmácias vivas. Fortaleza: BNB. 57p. 1997
- OKAMOTO, M. K. **Estudo das atividades cicatrizante e antimicrobiana do extrato glicólico e do gel de *Psidium guajava* L. e estudo da estabilidade do gel**. 2010. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- PEREIRA, Cristiane Aparecida et al . Ação antimicrobiana in vitro de extratos glicólicos de *Psidium guajava* L., *Syzygium cumini* L. e *Pimpinella anisum* L. **Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)**, São Paulo, v. 68, n. 1, abr. 2009 .



SANTANA, D. P.; RIBEIRO, E.L; MENEZES, A.C.S.; NAVES, P. L. F. Novas abordagens sobre os fatores de virulência de *Cândida Albicans*. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.12, n.2, p229-233, mai./ago. 2013