

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE TINTURAS DE PLANTAS TROPICAIS SOBRE MICROORGANISMOS DA CAVIDADE BUCAL

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF TINCTURES OF TROPICAL PLANTS AGAINST MICROORGANISMS OF THE BUCCAL SOCKET

Diana Gabriela de Sousa **SOARES**¹
 Cibele Braga de **OLIVEIRA**¹
 Milana Ramos Santana **DRUMOND**¹
 Daniele Bezerra **TRAVASSOS**²
 Camila Alves **SILVA**²
 Wilton Wilney Nascimento **PADILHA**³

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* a atividade antibacteriana das tinturas das folhas do cajá, da casca do limão e das folhas do jenipapo sobre microorganismos da cavidade bucal. As tinturas foram preparadas pela técnica da maceração obtendo-se uma concentração de 20%. As linhagens bacterianas selecionadas foram: *S. aureus* (ATCC 25923), *S. mutans* (ATCC 2575), *S. sobrinus* (ATCC 27609), e *L. casei* (ATCC 7469). A clorexidina 0,12% foi utilizada como controle positivo. Determinou-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM) em meio de cultura Agar Mueller Hinton. As placas de Petri foram semeadas pela técnica da inundação sendo em seguida realizadas sete perfurações de 6mm de diâmetro, onde foram inoculados 50µl das tinturas na forma pura (1:0) e diluídas de 1:1 até 1:32. As placas foram incubadas a 37°C em microaerofilia por 24 horas. Os resultados mostraram que as tinturas de limão e cajá foram efetivas sobre o *S. sobrinus*, até as concentrações de 2,5% e 0,3125%, e sobre o *S. aureus* até 10% e 1,25%, respectivamente; a tintura do jenipapo foi efetiva apenas sobre o *S. sobrinus*, apresentando ação até 10%. O *S. mutans* e o *L. casei* não apresentaram crescimento inibido frente as tinturas avaliadas. Concluiu-se que o *S. sobrinus* e o *S. aureus* foram os microorganismos mais susceptíveis; as tinturas de cajá e a de limão foram as que obtiveram os melhores resultados; as tinturas não apresentaram atividade antibacteriana sobre o *S. mutans* e o *L. casei*.

UNITERMOS: Fitoterapia; Odontologia preventiva; Microbiologia

INTRODUÇÃO

A cárie e a doença periodontal são as doenças bucais mais prevalentes na população brasileira, sendo o biofilme dental o fator etiológico primário no estabelecimento destas patologias².

A formação do biofilme dentário ocorre por meio de um processo de sucessão bacteriana, onde bactérias pioneiras se aderem à superfície dental favorecendo o estabelecimento de bactérias cariogênicas, como o *Streptococcus mutans*, o *S. sobrinus* e o *Lactobacillus casei*^{3,13,14}.

Outro microorganismo patogênico presente na cavidade bucal é o *Staphylococcus aureus*. Esta bactéria tem a capacidade de atuar como uma microbiota suplementar, sendo freqüentemente

encontrada em abscessos periapicais e estomatites protéticas¹⁰.

Frente às limitações dos métodos mecânicos de higiene, principalmente em pacientes que usam aparelhos ortodônticos e para pacientes especiais com dificuldades motoras, agentes antimicrobianos estão sendo cada vez mais estudados para redução do biofilme. Em face do exposto, diversas substâncias têm sido utilizadas, por meio de colutórios, na redução da microbiota cariogênica^{5,7,8,9,16}.

A clorexidina é um potente agente antimicrobiano, capaz de inibir o desenvolvimento dos microorganismos presentes no biofilme, porém apresenta efeitos adversos locais quando utilizada por tempo prolongado¹².

1 - Cirurgiã-Dentista formada pelo Curso de Odontologia da Universidade Federal da Paraíba.

2 - Estudante do Curso de Odontologia da Universidade Federal da Paraíba.

3 - Professor Doutor Titular da Disciplina de Clínica Integrada da Universidade Federal da Paraíba.

Desta forma, vê-se a necessidade de se desenvolver uma substância com potente atividade antimicrobiana, capaz de interferir no desenvolvimento do biofilme e que apresente efeitos colaterais reduzidos. Neste contexto, surgem os agentes naturais, que são economicamente viáveis, e constituem alternativas eficazes para afecções bucais^{11,12}.

No Brasil, a utilização das plantas medicinais no tratamento das diversas doenças é exercida há gerações por curandeiros, mas a cerca de vinte anos a medicina tradicional começou a integrar esta terapêutica em suas práticas. Este fato é observado pelo surgimento de vários centros científicos nas Universidades onde se realizam pesquisas na área da fitoterapia, como também pela realização de simpósios sobre o assunto¹⁵.

A fitoterapia na odontologia vem sendo bastante difundida, havendo diversos estudos com os princípios ativos das plantas medicinais, avaliando a eficácia no tratamento e determinando a melhor forma de aplicação⁶.

Desta forma, propusemo-nos a avaliar o efeito antibacteriano *in vitro* de tinturas de cajá, limão e jenipapo, através da técnica da Concentração Inibitória Mínima (CIM), sobre as linhagens de *S. aureus*, *S. mutans*, *S. sobrinus* e *L. casei*.

MATERIAL E MÉTODO

1 Tinturas utilizadas

As tinturas utilizadas foram preparadas através da maceração da planta seca utilizando-se o álcool como líquido extrator, obtendo-se uma concentração de 20%.

Foram avaliadas as seguintes tinturas: (A) casca do limão (*Citrus limon*); (B) folhas do cajá (*Spondias mombim*); (C) folhas do jenipapo (*Genipa americana*). Como controle positivo utilizou-se a clorexidina a 0,12% (D).

2 Seleção das cepas

As linhagens bacterianas utilizadas foram: *Streptococcus mutans* (ATCC 2575); *Streptococcus*

sobrinus (ATCC 27607), *Lactobacillus casei* (ATCC 7469) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Cada linhagem bacteriana foi reativada em caldo nutritivo Brain Heart Infusion (BHI), incubada a 37°C por 24 horas em microaerofilia. Após a observação da turvação do meio, as linhagens foram semeadas em placas de Petri contendo o meio de cultura Ágar Müller Hinton (DIFCO®) pela técnica de inundação.

3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A atividade antibacteriana foi avaliada pelo método de difusão em ágar em meio sólido para a determinação da CIM sobre as linhagens bacterianas. Foram confeccionados sete poços de 6 mm de diâmetro no meio de cultura. Nos poços foram colocados o volume de 50µl das tinturas pura (1:0) e diluídas de 1:1 até 1:32. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C em microaerofilia, obtida pela técnica da chama da vela, por um período de 24 horas. Verificou-se a presença de atividade antibacteriana através do aparecimento de halos de inibição. A CIM foi considerada a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano. Com o objetivo de controlar o estudo e assegurar a sua reprodutibilidade, os experimentos foram realizados em duplicata.

RESULTADO

Os resultados da atividade antibacteriana *in vitro* para determinação da CIM das tinturas e da clorexidina estão expostos nas Tabelas 1 a 4. As Figuras 1 a 4 são representativas dos halos de inibição das tinturas sobre os microorganismos avaliados.

Observou-se que as tinturas de cajá e limão apresentaram ação frente ao *S. sobrinus* e ao *S. aureus*. A tintura de jenipapo apresentou ação apenas sobre o *S. sobrinus*. Nenhuma das tinturas avaliadas foi capaz de inibir o crescimento do *S. mutans* e do *L. casei*. A clorexidina a 0,12% foi eficaz frente a todas as linhagens bacterianas avaliadas.

Tabela 1 – Atividade antibacteriana (em milímetros) da tintura de limão frente às linhagens bacterianas avaliadas após 24 horas.

Diâmetro (em milímetros) dos halos de inibição					
Diluição	CIM	<i>S. mutans</i>	<i>S. sobrinus</i>	<i>L. casei</i>	<i>S. aureus</i>
1:0	20%	0,0	12,0	0,0	14,0
1:1	10%	0,0	10,0	0,0	10,0
1:2	5%	0,0	9,0	0,0	0,0
1:4	2,5%	0,0	8,0	0,0	0,0
1:8	1,25%	0,0	0,0	0,0	0,0
1:16	0,625%	0,0	0,0	0,0	0,0
1:32	0,3125%	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela 2 - Atividade antibacteriana (em milímetros) da tintura de cajá frente às linhagens bacterianas avaliadas após 24 horas.

Diâmetro (em milímetros) dos halos de inibição

S. mutans S. sobrinus L. casei S. aureus

1:0 20% 0,0 26,0 0,0 17,0

1:1 10% 0,0 17,0 0,0 14,0

1:2 5% 0,0 15,0 0,0 10,0

1:4 2,5% 0,0 15,0 0,0 9,0

1:8 1,25% 0,0 13,0 0,0 9,0

1:16 0,625% 0,0 12,0 0,0 0,0

1:32 0,3125% 0,0 10,0 0,0 0,0

Diluição CIM Diâmetro (em milímetros) dos halos de inibição

S. mutans S. sobrinus L. casei S. aureus

1:0 20% 0,0 10,0 0,0 0,0

1:1 10% 0,0 8,0 0,0 0,0

1:2 5% 0,0 0,0 0,0 0,0

1:4 2,5% 0,0 0,0 0,0 0,0

1:8 1,25% 0,0 0,0 0,0 0,0

1:16 0,625% 0,0 0,0 0,0 0,0

1:32 0,3125% 0,0 0,0 0,0 0,0

Diluição CIM Diâmetro (em milímetros) dos halos de inibição

S. mutans S. sobrinus L. casei S. aureus

1:0 0,12% 16,0 17,0 15,0 17,0

1:1 0,06% 15,0 17,0 14,0 16,0

1:2 0,03% 14,0 15,0 14,0 15,0

1:4 0,015% 13,0 13,0 12,0 13,0

1:8 0,0075% 13,0 12,0 11,0 12,0

1:16 0,00375% 11,0 0,0 10,0 12,0

1:32 0,001875% 10,0 0,0 9,0 11,0

Tabela 3 - Atividade antibacteriana (em milímetros) da tintura de jenipapo frente às linhagens bacterianas avaliadas após 24 horas.

Tabela 4 - Atividade antibacteriana (em milímetros) da Clorexidina a 0,12% frente às linhagens bacterianas avaliadas após 24 horas.

Figura 1: Atividade antibacteriana da tintura de cajá sobre *S. aureus*.

Figura 2: Atividade antibacteriana da tintura de cajá sobre *S. mutans*.

Figura 3: Atividade antibacteriana da tintura de cajá sobre *S. sobrinus*.

Figura 4: Atividade antibacteriana da clorexidina sobre *S. aureus*.

DISCUSSÃO

O desenvolvimento da fitoterapia proporciona para a população uma diversidade de formas alternativas e eficazes de tratamento para as diversas enfermidades, apresentando custos reduzidos, como também provocam menos agressão ao organismo, desde que seu uso esteja

embasado em estudos científicos que comprovem sua eficácia e a melhor forma de aplicação.

O uso das plantas medicinais é um recurso útil nos programas de atenção primária de saúde quando são utilizadas plantas cujas propriedades farmacêuticas são justificadas cientificamente. A facilidade de acesso, o baixo custo e a compatibilidade cultural tem tornado a fitoterapia um recurso terapêutico recomendável especialmente para comunidades carentes, cuja assistência é difícil, como é o caso da região Nordeste.

No presente estudo avaliou-se a atividade antibacteriana *in vitro* de três plantas tropicais cultivadas no nordeste brasileiro. Observou-se que a tintura da casca do limão inibiu o crescimento do *S. sobrinus*, até a concentração de 2,5% (1:4), e do *S. aureus*, até 10% (1:1), não apresentando ação sobre *S. mutans* e *L. casei*. Alves³ avaliou a atividade antibacteriana e antiaderente *in vitro* do extrato hidroalcoólico a 80% da casca do limão sobre *S. mutans*, *S. sobrinus*, e *L. casei*, onde não se observou ação antibacteriana, o que difere do encontrado no presente estudo, entretanto, o extrato apresentou efeito na inibição da síntese do glucano, representada pela aderência ao vidro, sobre todas as linhagens ensaiadas, as quais são as principais responsáveis pela instalação e consolidação do biofilme dental.

Os resultados encontrados para a tintura de cajá demonstraram atividade antibacteriana para o *S. sobrinus* até a última diluição, apresentando CIM de 0,3125%. O *S. aureus* também se apresentou susceptível, apresentando seu crescimento inibido até a concentração de 1,25% (1:8). A tintura de Jenipapo inibiu o crescimento bacteriano apenas do *S. sobrinus* até a diluição de 1:1, com CIM de 10%.

Os ensaios referentes à clorexidina demonstraram sensibilidade de todas as linhagens bacterianas, apresentando ação até a diluição de 1:32 para *S. mutans*, *S. aureus* e *L. casei*, sendo o *S. sobrinus* o menos sensível, apresentando ação sobre este microorganismo até 1:8. Este resultado corrobora os estudos de Pereira¹², Alves³ e Araújo¹, onde o digluconato de clorexidina a 0,12% apresentou ação antibacteriana *in vitro* sobre *S. mutans*, *S. sobrinus* e *L. casei*, pela técnica da CIM, como também ação na inibição da síntese do glucano representada pela aderência ao vidro sobre todas as bactérias, apresentando elevada atividade sobre todas as linhagens bacterianas avaliadas, o que demonstra sua eficácia como potente antimicrobiano e na inibição do desenvolvimento do biofilme dentário por atuar agir sobre as principais bactérias responsáveis pela instalação e consolidação do biofilme dental.

CONCLUSÃO

De acordo com a metodologia empregada, pode-se concluir que:

- O *S. sobrinus* e o *S. aureus* foram os microorganismos mais susceptíveis;
- A tintura de cajá e do limão foram as que obtiveram os melhores resultados;
- As tinturas avaliadas não apresentaram atividade antibacteriana sobre o *S. mutans* e o *L. casei*.

ABSTRACT

The objective of this work was evaluated in vitro the antibacterial activity of the tinctures from the leaf of cajá, rind of lemon and leaf of jenipapo against microorganisms of the buccal socket. The bacterial sorts selected were: S. aureus (ATCC 25923), S. mutans (ATCC 2575), S. sobrinus (ATCC 27609), and L. casei (ATCC 7469). The clorexidine to 0,12% it was utilized as a positive control. It was determined the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) in culture medium Agar Mueller Hinton. The plates of Petri were sown by the technique of flooding being, after that, realized seven perforations of 6mm to diameter, where had been inoculate 50µl of the tinctures in the pure form (1:0) and diluted by 1:1 until 1:32. The plates of Petri were incubates to 37°C in microaerofily by 24 hours. The results shown that the tinctures of lemon and cajá were effectiveness against the S. sobrinus, until the concentration of 2,5% and 0,3125%, and against the S. aureus, until 10% and 1,25%, respectively; the tincture from jenipapo was effective just against the S. sobrinus, presenting action until 10%. The S. mutans and the L. casei didn't presented inhibition of growth front the tinctures evaluated. It was concluded that the S. sobrinus and the S. aureus were the microorganisms most susceptible; the tinctures from cajá and limão were the one that got the best results; the tinctures don't presented antibacterial activity against the S. mutans and the L. casei.

UNITERMS: *Phytotherapy; Preventive Dentistry; Microbiology*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Araújo CRF. Estudo da ação antimicrobiana e antifúngica do extrato de Citrus limon Linn (limão) e do Anacardium occidentale Linn (cajeiro) sobre microorganismos do biofilme dental e leveduras do gênero Candida. João Pessoa; 2005. [dissertação de mestrado Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Paraíba].
- 2 - Almeida ICS, Silva RHH, Silveira EG. Avaliação de uma metodologia para um programa educativo-preventivo em Saúde bucal para escolares. Rev Paul Odontol São Paulo. 1998; 20: 22-7.
- 3 - Alves PM. Atividade antimicrobiana e antiaderente in vitro dos extratos da Myracrodruon urundeuva All., Malva sylvestris e Psidium guajava Linn: sobre microorganismos do biofilme dental e cepas do gênero Candida. João Pessoa; 2005. [dissertação de mestrado Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Paraíba].
- 4 - Buischi YP. Promoção de saúde bucal na clínica odontológica. 1.ed. São Paulo: Artes médicas; 2000.
- 5 - Cai S. Effects of subinhibitory concentrations of chemical agents on hydrophobicity and in vitro adherence of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*. Caries Res. 1994; 28: 335-41.
- 6 - Ferreira B. Fitoterapia: plante essa idéia. Rev ABO Nac. 1996; 4: 87-90.
- 7 - Fine DH, Furgang D, Barnett ML, Drew C, Steimberg L, Charles CH, et al. Effect of an essential oil-containing antiseptic mouthrinse in plaque and salivary *streptococcus mutans* levels. J Clin Periodontol. 2000; 27: 157-61.
- 8 - Ito IY, Tirapelli C. Avaliação do efeito de quatro anti-sépticos orais no nível de estreptococos *mutans* na saliva *in vivo*. Rev ABO Nac. 2003; 11: 47-52.
- 9 - Jardim PS, Gaetti-Jardim Junior E. Influência da remoção mecânica de placa bacteriana associada ao uso diário de solução fluoretada. RGO. 1998; 46: 79-84.
- 10 - Martins CAP, Koga-Ito CY, Jorge C. Presence of *Staphylococcus* spp. And *Candida* spp. in the human oral. Braz. J. Microbiol. 2002; 33: 236- 40.
- 11 - Moran J, Addy M, Roberts S. A comparison of natural product, triclosan and chlorexidine mouthrinses on 4-day plaque regrowth. J Clin Periodontol. 1992; 19: 578-82.
- 12 - Pereira JV. Estudo com o extrato da *Pungica granatum* Linn. (Romã): efeito antimicrobiano avaliação clínica de um dentifrício sobre microorganismos do biofilme dental. João Pessoa; 2002. [tese de doutorado Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Paraíba].
- 13 - Souza FB, Gil JN. Doença cárie: nem infecciosa, nem transmissível. RGO. 2001; 49: 139-44.
- 14 - Thylstrup A, Fejerskov O. Tratado de cariologia. 2 ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 1995.

- 15 - Xavier MN, Ramos INC, Xavier Filho L. A Fitoterapia no combate às afecções bucais. 1.ed. João Pessoa: Idéia; 1995.
- 16 - Zanela NLM, Bijela MFTB, Machado MAAM, Silva SMB, Tarzia O. Influência de bochechos com soluções de digluconato de clorexidina a 0,2%, fluoreto de sódio a 0,05% ph 3,4 e esteviosídeo 0,1%, na inibição da placa dentária "in vivo", em crianças. Revista FOB. 1997; 5: 71-80.

Endereço para correspondência

Diana Gabriela de Sousa Soares
Faculdade de Odontologia da Universidade
Federal da Paraíba
E-mail: diana_odonto@yahoo.com.br