XXVIII Encontro Anual de Iniciação Científica
V Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior
eaic 2019

ANÁLISE DA SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE ESPECIES DE PLANTAGO FRENTE A MICRORGANISMOS DE RELEVÂNCIA NO TRATAMENTO DE DESORDENS BUCAIS

Aline Coelho de Andrade Souza (PIBIC/FA), Vitoldo Antonio Kozlowski Junior (Orientador), e-mail: vakozlowski@uepg.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Odontologia.

Odontologia/Clínica Odontológica

Palavras-chave: tanchagem, antimicrobiano, odontologia.

Resumo

Os fitoterápicos podem ser utilizados na Odontologia como tratamento alternativo menos tóxico e mais eficaz em doenças bucais. Este é o caso da *Plantago major*, reconhecido pela ANVISA por suas propriedades antimicrobiana e anti-inflamatória, popularmente conhecida como tanchagem. Também existem outras espécies do gênero *Plantago*, tais como *P. lanceolata* e *P. australis*, que embora não sejam reconhecidas pela ANVISA apresentam propriedades semelhantes a *P. major*. Tendo em vista a importância da tanchagem, a pesquisa teve por objetivo a análise da atividade antimicrobiana de infusões obtidas de *P. major*, *P. lanceolata* e *P. australis*, encontradas na cidade de Ponta Grossa/PR, frente a *E. coli* e *S. aureus*, microrganismos comumente responsáveis pelas desordens bucais. A partir dos testes realizados, obtivemos como resultado que com as amostras testadas o meio de cultura influenciou os resultados, com amostras em ágar Muller-Hinton não apresentando inibição do crescimento de microrganismos, enquanto em ágar manitol e MacConkey, para a *P. lanceolata*, houve inibição microbiana. Nos testes em microplacas as amostras testadas apresentaram atividade antimicrobiana.

Introdução

Na Odontologia, os fitoterápicos têm um papel importante, mesmo que limitado, em algumas desordens como gengivite e periodontite (LUZ et al, 2012). A gengivite e a periodontite têm como principal fator causal a presença de microrganismos patogênicos no biofilme dental acumulado, assim plantas que demonstram atividade antimicrobiana são interessantes para o tratamento de tais desordens (CORDEIRO et al, 2006).

De grande importância para a Periodontia, tem-se o gênero *Plantago*, que apresenta tal propriedade terapêutica interessante para o tratamento de gengivite e periodontite (LUZ et al, 2012). Diversas pesquisas demonstram a atividade antimicrobiana de *Plantago major* sobre microrganismos presentes no biofilme dental e na gengivite como, por exemplo, os estudos de Navarro et al (1998), Freitas

et al (2002) e Cordeiro et al (2006). Ainda que a espécie *P. major* seja reconhecida, existem outras espécies que não possuem reconhecimento por parte da ANVISA, como a *P. lanceolata* e a *P. australis* (HEFLER; RODRIGUES; CERVI, 2011).
Tendo em vista as presentes informações, a pesquisa surge com o principal objetivo de analisar a atividade antimicrobiana de três espécies, *P. major, P. laceolata e P. australis*, encontradas no município de Ponta Grossa/Paraná, frente a bactérias comumente encontradas em desordens bucais: E. coli e S. aureus. Para atingir esse objetivo lançou-se mão de revisão bibliográfica sobre o assunto, assim como a coleta de três espécies de tanchagem, que, a partir de suas corretas identificações e confecção de infusões, foram objeto dos testes microbiológicos em placas de ágar Muller-Hinton, manitol e MacConkey.

Material e Métodos
A primeira etapa foi a revisão bibliográfica, na qual foram pesquisados os termos "tanchagem", "Plantago", "atividade antimicrobiana" e "Odontologia", limitando-se o tempo entre os anos de 1979 até 2019, nas bases de dados Scielo, CAPES e ANVISA.
A partir da identificação das espécies de tanchagem, por meio da confecção de exsicatas e posterior identificação pelo Herbário da UEPG, foram preparadas infusões de suas folhas secas e de folhas frescas fervendo-se 100 mL de água, após fervura, a água foi vertida sobre 6 g das folhas secas da planta. O frasco foi tampado durante 5 minutos e esperou-se resfriar a infusão em temperatura ambiente. Também foram feitas infusões nas quais a quantidade de folhas foi dobrado. Após a infusão resfriar a temperatura ambiente, todas as infusões confeccionadas foram armazenadas em frasco de plástico opaco.
Para os testes microbiológicos foram utilizados: *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), ambos foram incubados em ágar Muller Hinton e ágar chocolate, respectivamente, em estufa a 35 ºC por 24 horas. Após esse período procedeu-se a diluição dos microrganismos: primeiramente, foi feita a diluição até obtenção da turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala MacFarland; no momento seguinte, cada tubo da escala MacFarland foi rediluído em salina estéril na proporção de 1:10, obtendo-se uma concentração de 10^4 UFC/ponto inoculado.
Em seguida procedeu-se a confecção das placas utilizadas nos testes — os meios de cultura selecionados foram ágar Muller-Hinton, ágar manitol e ágar MacConkey. As placas foram preparadas empregando 2mL da infusão de tanchagem, selecionando-se uma placa para cada espécie da planta, 18mL do meio de cultura e 5 microlitros da diluição em salina estéril contendo os microrganismos. Após a adição de infusão, microrganismo e meio de cultura, cada placa foi homogeneizada manualmente, e incubada a 35 º C por 20 horas para posterior leitura dos resultados. Após transcorrido o período de incubação, as placas foram analisadas verificando tanto a quantidade de microrganismos que cresceram quanto o tipo de colônias que cresceram. Para a análise de quantidade de microrganismos, foi estabelecido um

ISSN 1676-0093

escore para cada placa dos testes. As placas contendo as amostras de tanchagem foram comparadas com as placas controle que continham apenas microrganismos.

Resultados e Discussão

A partir da análise dos dados obtidos durante a pesquisa bibliográfica foram selecionados um total de 17 artigos pertinentes e que foram utilizados como embasamento teórico para realização da pesquisa. Com as amostras coletadas de diversas espécies de tanchagem, encontradas no município de Ponta Grossa, cinco amostras de plantas fizeram parte desse estudo: 3 espécies de *Plantago major*, 1 de *Plantago lanceolata* e 1 de *Plantago australis*.

Os dados obtidos dos testes microbiológicos foram tabelados e, a partir de sua análise, pode-se observar que para todas as amostras testadas, quando utilizado ágar Muller-Hinton (tabela 1), mesmo em concentrações diferentes, não houve inibição do crescimento de *S. aureus* e de *E. coli*. A ausência de inibição do crescimento microbiano pode ser justificada pela própria metodologia. Analisando que a placa finaliza com uma concentração de 0,006 e 0,012 g de folha por mL de meio de cultura, tornando a amostra muito diluída para que alguma atividade antimicrobiana da planta fosse efetiva.

Tabela 1 – Resultados dos testes com diferentes espécies de tanchagem, utilizando ágar Muller-Hinton como meio de cultura

Amostra	*E. coli*	*S. aureus*
Controle	+	+
P. major 1, folhas secas, 6g folha/100mL	++++	+++
P. lanceolata, folhas secas, 6g folha/100mL	+++++	+++
P. australis, folhas secas, 6g folha/100mL	+++++	++++
P. major 2, folhas secas, 6g folha/100mL	+++	+++
P. lanceolata, folhas secas, 12g folha/100mL	++++	++++
P. major 3, folhas frescas, 12g folha/100mL	++++	++++
P. major 1, folhas frescas, 12g folha/100mL	++++	++++

Tabela 2 – Resultado dos testes realizados com diferentes espécies de tanchagem, utilizando como meio de cultura o ágar manitol e ágar MacConkey

Amostra	*S. aureus*	*E. coli*
Controle	+++	++++
P. lanceolata, folhas secas, 12g folha/100mL	+	+++
P. major 3, folhas frescas, 12g folha/100mL	+	+++++
P. major 1, folhas frescas, 12g folha/100mL	+	+++++

Quando observamos a tabela 2, que demonstra os resultados obtidos a partir de placas contendo meio de cultura ágar manitol, concluímos que houve inibição do

ISSN 1676-0093

crescimento de *S. aureus* com todas as amostras testadas. Quando utilizamos o meio de cultura ágar MacConkey, houve crescimento de *E. coli* maior que o do grupo controle em todas as amostras, exceto para *P. lanceolata*, onde houve inibição do crescimento. Outro aspecto importante dos resultados obtidos foi a presença de outras espécies de microrganismos, que não foram identificados, observadas após a incubação das placas. Essa contaminação pode ser proveniente das próprias folhas de tanchagem, pois estes estão expostas a diversos microrganismos, quando coletadas diretamente da natureza.

Conclusão/ões

Baseado nas informações obtidas, sugere-se que: (1) testes conduzidos em diferentes meios de cultura demonstram sensibilidade diferente para as amostras testadas, especialmente pela diluição dos extratos das plantas medicinais; (2) testes em microplacas sugerem mais efetividade das amostras testadas inibindo o crescimento microbiano; (3) testes realizados diretamente em placas aumentam a possibilidade do crescimento de outras espécies de microrganismos, sugerindo contaminação das amostras vegetais; e, (4) a contaminação observada, demostra que a metodologia utilizada não é tão efetiva para avaliar a atividade antimicrobiana de espécies de tanchagem frente a microrganismos encontrados na cavidade oral (*S. aureus* e *E. coli*). Entretanto, se mostra eficiente em detectar a contaminação nas folhas das plantas, podendo ser um método de interesse para avaliar a presença de contaminantes previamente a testes microbiológicos.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer ao Professor Dr. Vitoldo Antonio Kozlowski Jr.,ao Professor Dr. Luis Antonio Esmerino, à professora Dra. Rosângela Capuano Tardivo, ao Herbário da UEPG, aos técnicos José Maurício e Jana. E por fim, agradecer a Universidade Estadual de Ponta Grossa e a Fundação Araucária.

Referências

CORDEIRO, C. H. G.; SACRAMENTO, L. V. S.; CORRÊA, M. A.; PIZZOLITTO, A. C.; BAUAB, T. M. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, vol. 42, n. 3, jul./set., 2006.

HEFLER, S. M.; RODRIGUES, W. A.; CERVI, A. C. O gênero Plantago L. (Plantaginaceae) na região Sul do Brasil. **R. Bras. Bioci.**, Porto Alegre, v. 9, n. 3, p. 297-321, jul./set. 2011.

LUZ, A. C.; PRETTI, I.R.; DUTRA, J. C. V.; BATITUCCI, M. C. P. Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de Plantago major L. em sistemas teste in vivo. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.14, n.4, p.635-642, 2012.

NAVARRO, D. F.; SANTOS, E. A. T.; ROCHA, J. C. F.; BREMM, L. L.; JUKOSKI, M; RIBEIRO, G; KOZLOWSKI JR, V. A. Efeitos do digluconato de clorexidina, Plantago major e placebo sobre placa dental e gengivite: uma comparação clítica da eficácia de colutórios. **Rev. Bras. Pl. Med**., Campinas, SP, v.1, n. 1, p. 28-38, 1998.