AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS ESPÉCIES DE PLANTAGO ENCONTRADAS NA REGIÃO DE PONTA GROSSA-PR E SUA IMPORTÂNCIA NA ÁREA ODONTOLÓGICA

Aline Coelho de Andrade Souza (PIBIC/PROVIC), Nadinny Mariana Harms (Coautora), Luis Antonio Esmerino (Coautor), Vitoldo Antonio Kozlowski Junior (Orientador), e-mail: vakozlowski@uepg.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Odontologia.

Odontologia/Clínica Odontológica

Palavras-chave: fitoterápicos, *Plantago*, ação antimicrobiana.

Resumo

A presente pesquisa procurou analisar a atividade antimicrobiana de espécies da planta tanchagem encontradas na cidade de Ponta Grossa/PR. Para isso, foi realizada a coleta de amostras e sua posterior identificação botânica. Com as espécies identificadas, foram preparadas infusões das folhas secas das seguintes espécies: *P. major, P. lanceolata e P. australis*. Essas foram empregadas nos seguintes testes microbiológicos: em placa com ágar Muller-Hinton, onde se fez uma cavidade para colocar a infusão e, em microplacas de 96 poços com caldo Muller-Hinton. Após a realização dos testes concluiu-se que em placa de ágar não houve formação de halo de inibição de crescimento, mostrando que a concentração das infusões utilizadas foi insuficiente para possuir atividade antimicrobiana. Em contrapartida, nos testes em microplacas observou-se a inibição do crescimento bacteriano com as espécies testadas. Estes resultados apontam a necessidade da realização de novos testes e/ou outras metodologias.

Introdução

Os fitoterápicos podem ser utilizados na área odontológica, e pesquisas revelam o potencial de atividade analgésica, antimicrobiana ou anti-inflamatória de várias plantas (LUZ *et al*, 2012). Nesse sentido, tem-se o gênero *Plantago*, em destaque, a espécie *Plantago major L*., popularmente conhecida como tanchagem, tansagem ou tranchagem, possuindo propriedades terapêuticas como: antimicrobiana, anti-inflamatória, antisséptica e antitérmica (LUZ *et al*, 2012). A *P. major* é reconhecida pela ANVISA por suas atividades anti-inflamatória e antisséptica na cavidade oral. Algumas pesquisas comprovam a ação da *Plantago major* sobre microrganismos da placa dental e gengivite (NAVARRO *et al*, 1998). Porém existem outras espécies de tanchagem não reconhecidas pela ANVISA, destacando-se *Plantago lanceolata e*

Plantago australis, entre outras, assim o estudo sobre as propriedades terapêuticas dessas espécies é de extrema importância, tanto para o avanço tecnológico como para alternativas no tratamento de desordens bucais.
Com base nessas informações, a pesquisa teve como objetivo analisar o efeito antimicrobiano das várias espécies de tanchagem encontradas na localidade de Ponta Grossa/PR. Para tal, lançou-se mão de revisão bibliográfica, coleta das espécies *P. major*, *P. australis* e *P. lanceolata* que, a partir das suas exsicatas e infusões, foram objeto dos testes microbiológicos em placa ágar com cavidade e em microplacas com caldo Muller-Hinton.

Materiais 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 2007 até 2018, nas bases de dados Scielo, CAPES e ANVISA. Foram selecionados um total de dezoito artigos relevantes para a pesquisa. Além disso, foi averiguado no herbário da UEPG as espécies de tanchagem tombadas antes do início da pesquisa, sendo encontradas: 1 *P. alpina*, 6 *P. australis*, 13 *P. guilheminiana*, 3 *P. hirlella*, 4 *P. lanceolata*, 4 *P. major*, 14 *P. tomentosa* e 11 *Plantago* sp. A partir da coleta das amostras foram confeccionadas exsicatas, e estas enviadas ao herbário da UEPG, sendo identificadas: 4 *P. major*, 1 *P. lanceolata* e 2 *P. australis*.
Na etapa microbiológica, foram escolhidos *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922), o primeiro microrganismo foi semeado em ágar chocolate e o segundo, em ágar MacConkey, ambos encubados em estufa a 35 ºC por um período de 24 horas. Foi preparado ágar Muller-Hinton, diluindo-se 9 g de ágar em 250 mL de água deionizada e essa mistura foi esterilizada. Após esterilização, 20 mL do ágar foi distribuído em placas de Petri e essas foram armazenadas em geladeira. Em conjunto o caldo Muller-Hinton foi preparado, diluindo-se 2,1 g de caldo em 100 mL de água deionizada e levados para esterilização, após esse procedimento, o caldo foi armazenado em geladeira.
No dia seguinte, foram realizadas a diluição com cada espécie de microrganismo escolhido até chegar no grau de turbidez 0,5 da escala MacFarland. Cada espécie em diluição foi semeada em ágar Muller-Hinton e foi feita uma cavidade padronizada com capacidade de 90 microlitros. Com quatro espécies de tanchagem foi preparado a infusão de suas folhas secas. A infusão foi preparada fervendo-se 150 mL de água, após fervura a água foi vertida sobre 9 g das folhas secas, o frasco foi tampado durante 5 minutos e esperou-se resfriar a infusão em temperatura ambiente. Após o resfriamento, essas foram adicionadas na placa com ágar da seguinte forma: a) para a *S. aureus*: 1 placa com a cavidade foi adicionada 90 microlitros da infusão; b) para a *E. coli*: 1 placa com a cavidade foi adicionada 90 microlitros da infusão. Essas placas foram encubadas em estufa a 35 ºC por 24

horas para posterior leitura, onde constatou-se que não houve inibição do crescimento microbiano em todas as placas testadas.
Outro teste realizado foi com microplacas contendo caldo Muller-Hinton utilizando placas de Elisa estéreis com 96 poços. Para isso, os poços foram preparados contendo: controle negativo, controle positivo, padrão de inibição (com alíquotas de clorexidina 0,12%) e as quatro amostras de tanchagem. Após a confecção da microplaca, essa foi levada ao Laboratório Multiusuário da UEPG onde foi realizada a leitura da absorbância em 600 nm, no tempo zero e depois armazenadas em estufa a 35 ºC por 48 horas. Também foi realizada a leitura das placas em 600 nm nos tempos de 24 horas e 48 horas, sempre no mesmo horário.

Resultados e Discussão

Com a coleta das amostras de espécies de tanchagem, encontramos um total de 7 plantas. Após a confecção de suas exsicatas, como pode ser observado na figura 1, e posterior identificação pelo herbário da Universidade encontramos: 4 *Plantago major*, 1 *Plantago lanceolata* e 2 *Plantago australis*. Dessas espécies encontradas, foram escolhidas apenas quatro plantas para realização dos testes, devido à quantidade ser suficiente para a confecção das infusões, sendo elas: 2 *Plantago major*, 1 *Plantago australis* e 1 *Plantago lanceolata*.
No teste microbiológico em placa de ágar Muller-Hinton, após 24 horas de incubação foi observado a ausência de halo de inibição em todas as amostras testadas (figura 2). A proporção utilizada na confecção das infusões foi a recomendada pela Farmacopeia Brasileira, mas não se confirmou a atividade microbiológica das plantas nos testes realizados com placa de ágar Muller-Hinton.

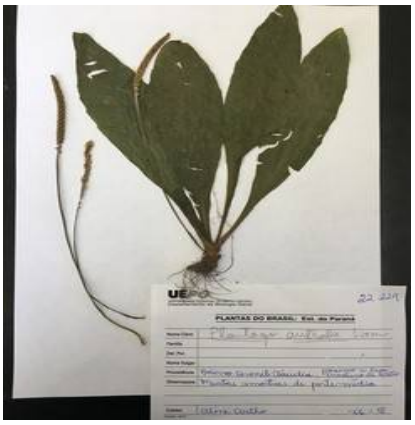


Figura 1 – Exsicata da *Plantago australis* obtida com a pesquisa, após identificação pelo herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

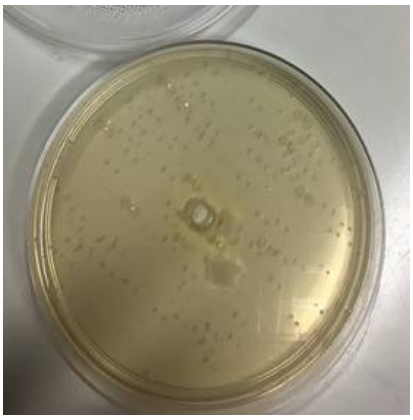


Figura 2 – Placa de ágar Muller-Hinton contendo *E. coli* e infusão da *Plantago major*, após 24 horas de incubação em estufa a 35ºC. Pode-se observar a ausência de halo de inibição de crescimento ao redor da cavidade contendo a infusão.

Em contrapartida, nos testes realizados em microplaca com 96 poços, ocorreu inibição do crescimento microbiano nos poços, seja com as tanchagens ou com a clorexidina. Nas colunas contendo *P. major* houve redução significativa nos valores de absorbância de 1,321 para 0,534 e de 1,211 para 0,659 quando testadas com *E. coli*; e, de 1,484 para 0,586 e de 1,327 para 0,674 nos testes com *S. aureus*. Nos poços contendo *P. australis* também ocorreu redução nos valores de absorbância, sendo uma redução mais significativa contra *S. aureus* (de 1,487 para 0,768) do que contra a *E. coli* (de 1,231 para 1,103). Já nos poços contendo *P. lanceolata* houve inibição, porém com uma menor significância, pois para a *E. coli* a absorbância reduz de 1,451 para 0,701, e para *S. aureus* foi de 1,455 para 1,073.

Conclusões

Os testes realizados na presente pesquisa apontaram que a infusão da tanchagem não conseguiu formar halo de inibição de crescimento bacteriano, tanto da *E. coli* quanto da *S. aureus* em placas de ágar Muller-Hinton. Entretanto, quando as infusões foram testadas em microplacas, com possibilidade de colocar uma quantidade maior de infusão, ocorreu inibição do crescimento bacteriano significativo com as *P. major* e *P. australis*, sendo inferior com a *P. lanceolata*. Assim, podemos observar uma diferença nos resultados provavelmente pela quantidade de infusão empregada, visto que em placas usamos 90 microlitros e nas microplacas usamos 190 microlitros. Tem-se que os testes são inicias, fazendo-se necessário a continuidade da pesquisa para aprimoramento dos resultados.

Agradecimentos

Agradeço ao orientador, Dr. Vitoldo A. Kozlowski Jr, ao Dr. Luis A. Esmerino e todos os profissionais envolvidos na pesquisa e à Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Referências

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira**. Brasília: ANVISA, 2011.

LUZ, A. C.; *et al*. 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. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722012000400010&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 28 ago. 2018.

NAVARRO, D. F. *et al*. 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, v.1, n. 1, p. 28-38, 1998. Disponível em: <http://www.sbpmed.org.br/download/issn_98/artigo_4_v1_n1.pdf>. Acesso em: 28 ago. 2018.