

EFEITOS DO ÓLEO ESSENCIAL PRODUZIDO POR *Baccharis dracunculifolia* D. C. (ASTERACEAE) SOBRE BACTÉRIAS CARIOGÊNICAS

Regina Ferronato¹
Eli Danieli Marchesan¹
Franciela Bednarski²
Tassia Tamara Zanini Ribas²
Sideney Becker Onofre³

FERRONATTO, R.; MARCHESAN, E. D.; BEDNARSKI, F.; RIBAS, T. T. Z.; ONOFRE, S. B. Efeitos do óleo essencial produzido por *Baccharis dracunculifolia* D. C. (asteraceae) sobre bactérias cariogênicas. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama*, v. 11, n. 1, p. 15-18, jan./abr. 2007.

RESUMO: O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antibacteriana do óleo essencial produzido pela *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae), frente aos microrganismos cariogênicos *Streptococcus mutans* (ATCC 2575); *S. sobrinus* (ATCC 27607); *S. sanguis* (ATCC 10557) e *Lactobacillus casei* (ATCC 4646). Empregou-se a técnica de Concentração Inibitória Mínima (CIM); sendo que cada linhagem bacteriana foi reativada em caldo Tryptic Soy Broth, incubada a 37° C por 24 horas em microaerofilia e semeadas em meio de cultura Ágar Mueller Hintön pela técnica de inundação. O óleo essencial foi empregado em concentrações de 100% a 0,19% e os halos de inibição mensurados. Verificou-se, na linhagem *S. mutans*, uma CIM de 6,25%. Para as linhagens *S. sanguis* e *S. sobrinus*, as CIMs observadas foram de 1,56%. Em relação ao *L. casei*, a CIM obtida foi de 3,12%. Com esses resultados podemos concluir que o óleo essencial produzido por *B. dracunculifolia* é capaz de inibir o crescimento das cepas bacterianas avaliadas.

PALAVRAS-CHAVE: *Baccharis dracunculifolia*, bactérias cariogênicas, óleo essencial, antibacterianos.

EFFECTS OF THE ESSENTIAL OIL PRODUCED BY THE *Baccharis dracunculifolia* D. C. (ASTERACEAE) ON CARIOGENIC MICROORGANISMS

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the antibacterial activity of the essential oil produced by the *Baccharis dracunculifolia* D. C. (Asteraceae) towards the cariogenic microorganisms: *Streptococcus mutans* (ATCC 2575); *S. sobrinus* (ATCC 27607); *S. sanguis* (ATCC 10557) and *L. casei* (ATCC 4646). The technique used was the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Each bacterium branch was reactivated in Tryptic Soy Broth, incubated in 37° C for 24 hours in Ágar Mueller Hintön culture. The essential oil was used from 100 % to 0.19 % concentration and the inhibition halo was measured. It was verified that the *S. mutans* branch presented 6.25 % MIC. The *S. sanguis* and *S. sobrinus* presented 1.56 % MIC. The MIC was 3.12 % for the *L. casei*. We concluded that the essential oil produced by the *B. dracunculifolia* inhibits the growth of the bacteria evaluated.

KEYWORDS: *Baccharis Dracunculifolia*; Cariogenic Bacteria, Essential Oil; Antibacterial.

Introdução

A necessidade de medicar e a disponibilidade de plantas medicinais no processo civilizatório constituíram os primórdios do ato de curar, remontando à antiguidade o uso de vegetais como medicamentos (LORETTO et al., 2000).

No Brasil estão localizadas cerca de 20% das 250 mil espécies medicinais catalogadas pela UNESCO, facilitando o aproveitamento do potencial curativo dos vegetais para o tratamento de doenças, inclusive na área de odontologia (NASCIMENTO et al., 2004; LORSCHIEDER et al., 2004).

A cárie dentária é uma doença multifatorial, em que se verifica a interação de quatro fatores principais: hospedeiro, dieta, tempo e a microbiota (LORSCHIEDER et al., 2004). A formação do biofilme dental ocorre através da fixação de bactérias sobre as superfícies dentárias. Assim, o biofilme, devido à sua característica de contínua agressão, vai adquirindo novas espécies em cada etapa do seu desenvolvimento. Dentre estes microrganismos podemos citar: *Streptococcus*

mitis, *S. sanguis*, *S. sobrinus*, *S. mutans* e *Lactobacillus casei* (HIROSE, 1993; DUARTE et al., 1995; JORGE, 1995; COCHRAN, 1996).

A remoção do biofilme dentário é um fator importante na prevenção da cárie e doença periodontal. Frente às limitações dos métodos mecânicos de higiene, agentes antimicrobianos são estudados no controle do biofilme. Em face do exposto, diversas substâncias têm sido utilizadas, por meio de enxágue bucal, na redução da microbiota cariogênica (GREGORY, 1990; HARDIE, 1992; DUARTE et al., 1995).

Alguns produtos de origem vegetal são utilizados na higiene bucal com a vantagem de não apresentarem efeitos colaterais, sendo relatadas apenas uma pequena ardência com possibilidade de erosão na mucosa, quando comparados a produtos sintéticos (KRASSE, 1988; LORETTO et al., 2000; NARVAI et al., 2001; SORIANO et al., 2002).

Assim, com o estudo científico do uso de determinadas plantas no combate às doenças bucais, a Odontologia poderá beneficiar a população ao aderir com a fitoterapia. O óleo de copaíba vem sendo

¹ Acadêmicas do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Paranaense – UNIPAR – Campus de Francisco Beltrão – PR.

² Acadêmicas do Curso de Biomedicina da Universidade Paranaense – UNIPAR – Campus de Francisco Beltrão – PR.

³ Biólogo, Doutor em Processos Biotecnológicos, Professor Titular da Universidade Paranaense – UNIPAR – Campus de Francisco Beltrão – PR -

Endereço para correspondência: Universidade Paranaense – UNIPAR, Campus de Francisco Beltrão, Av. Julio Assis Cavalheiro, 2000, Caixa Postal 255, Bairro Industrial, 85601-000 – Francisco Beltrão – PR.

indicado, há mais de quatro séculos, para diversos fins farmacológicos. Este óleo é exudato do tronco da copaibeira. Os estudos de atividade antibacteriana mostraram atividade bactericida e bacteriostática do óleo frente ao *Streptococcus mutans* (POZETTI et al., 1972; PIZZOLITTO et al., 1972; WOISKY, 1994; MARCUCCI, 1996).

A malva é uma planta herbácea, dispersa no continente europeu, africano e americano. Para fins farmacológicos utilizam-se suas folhas, flores e raízes. É utilizada para inflamações da pele, boca, garganta (laringite, faringite), tratamento de problemas respiratórios e irritações gastrintestinais (GUERRA, NODARI, 2001).

Gebara et al. (1996) apud Duarte (2003)¹, avaliaram a ação antibacteriana de tinturas de malva, cacau, salva, camomila, tomilho e própolis sobre *S. mutans* e *S. sobrinus* *in vitro*. As concentrações das tinturas variaram entre 0,05 e 0,16 mg/mL. As Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) para *S. mutans* foram de 0,06; 0,10 e 0,04 mg/mL para tomilho, cacau e própolis respectivamente. Para *S. sobrinus*, as CIM foram de 0,04; 0,12 e 0,02 mg/mL para tomilho, cacau e própolis respectivamente. Malva, salva e camomila não apresentaram ação antimicrobiana.

A própolis apresenta composição bastante complexa, variando de acordo com sua origem botânica, tendo sido isolados mais de 300 componentes químicos. Um dos seus principais efeitos biológicos é a atividade antimicrobiana (bacteriana, micótica e viral). As ações anti-sépticas, antiinflamatórias e cicatrizantes da própolis já estão comprovadas, tanto cientificamente como popularmente (OLIVEIRA; BASTOS 1998).

As propriedades biológicas da própolis podem estar diretamente ligadas à sua composição química e à sua origem botânica. No Brasil são descritas propriedades biológicas e composição química distintas para diferentes amostras coletadas em diferentes partes do país, destacando os flavonóides (flavonas, flavonóis e flavononas), sendo a crisina (5,7-diidroxi-flavona) o primeiro flavonóide isolado, cuja fonte vegetal é *Populus nigra* var. *pyramidalis* e atualmente estão sendo avaliados própolis verde de origem botânica de *B. dracunculifoli*. Todos esses própolis estão sendo utilizados como dentifrícios (GHISALBERTI, 1979; BANKOVA 1995; PARK 2000, 2004).

Os primeiros resultados sobre estudos da origem botânica de própolis produzidos por *Apis mellifera* (africanizadas) no Brasil foram apresentados inicialmente por Santos (1996) e em seguida por Santos, Message (1997).

Considerando que a *B. dracunculifolia* é uma espécie usada pelas abelhas na composição da própolis e a própolis está sendo utilizada como dentifrício é que o presente estudo teve por objetivo verificar a eficácia do óleo essencial produzido por essa planta no controle

in vitro do crescimento de bactérias cariogênicas

Material e Métodos

O óleo utilizado neste trabalho foi obtido pelo processo de hidrodestilação, utilizando-se um extrator do tipo Clevenger. A espécie de *Baccharis* utilizadas para a obtenção do óleo essencial foi a *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae), coletada na região Sudoeste do Estado do Paraná, no período de janeiro de 2005 a junho de 2006. As exsiccatas com esse material estão arquivadas no Laboratório de Botânica da Universidade Paranaense – UNIPAR – Campus de Francisco Beltrão, sob nº 428-A.

As linhagens bacterianas formadoras de biofilme dentário utilizadas foram: *Streptococcus mutans* (ATCC 2575); *Streptococcus sobrinus* (ATCC 27607); *Streptococcus sanguis* (ATCC 10557) e *Lactobacillus casei* (ATCC 4646). Cada linhagem bacteriana foi reativada em caldo nutritivo Tryptic Soy Broth (TSB), incubada a 37° C por 24 horas em microaerofilia. Suspensões bacterianas foram preparadas em solução fisiológica estéril e ajustadas ao tubo 0,5 da escala de McFarland, o que corresponde aproximadamente a 1,5 x 10⁶ UFC/mL das bactérias avaliadas e em seguida semeadas em placas de Petri, com auxílio de uma alça de Drigalski, contendo o meio de cultura Ágar Müller Hinton (Merck®) pela técnica de inundação.

Foram preparadas escalas com tubos de ensaio numerados de 1 a 10 conforme as diferentes concentrações. Para isso foi utilizado DMSO (Dimetilsulfóxido) como solvente. As concentrações preparadas foram: 100,00; 50,00; 25,00; 12,50; 6,25; 3,12; 1,56; 0,78; 0,39 e 0,19%. No tubo 1 foi colocado 2ml do óleo puro e nos demais tubos (2 a 10) 1mL de DMSO a 1mL do tubo anterior.

Foram confeccionados cinco poços/placas de aproximadamente 5 mm de diâmetro, para receber 50µL do óleo nas diferentes concentrações. Portanto, para se testar todas as concentrações, foram utilizadas duas placas para cada cepa testada. A incubação foi feita em estufa a 35° C, num período de 24 a 48 horas. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em mm pela média aritmética do diâmetro dos halos de inibição formado ao redor dos discos nas 3 repetições.

Os diâmetros dos halos de inibição foram interpretados de acordo com os critérios de interpretação preconizados pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997, 2000a e 2000b). A CIM (Concentração Inibitória Mínima) foi considerada como a menor concentração do óleo testado capaz de inibir o desenvolvimento bacteriano.

¹ GEBARA, E. C. E.; ZARDETTO, C. G. D. C.; MAYER, M. P. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. Revista de Odontologia Universidade de São Paulo. v. 10. n. 4, p. 251-256, 1996.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos com estudo com o óleo essencial produzido pela *Baccharis dracunculifolia*, em 10 diferentes concentrações, mostraram resultados que estão sumarizados na tabela 1.

Analisando-se os resultados obtidos, pode-se verificar que o óleo essencial produzido por *B. dracunculifolia* apresentou atividade antimicrobiana nas concentrações acima de 6,25%, para as quatro cepas testadas. Para as cepas de *S. sobrinus* e *S. sanguis* o óleo essencial foi capaz de inibir o crescimento microbiano

Tabela 1. Distribuição em milímetros de halo de inibição da ação antibacteriana do óleo essencial produzido por *B. dracunculifolia* testado sobre bactérias cariogênicas, segundo a escala de diluição.

Microrganismos	Concentrações avaliadas (%)									
	100	50	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	0,19
<i>S. mutans</i> (ATCC 2575)	32,4	28,3	23,3	10,4	7,3	0	0	0	0	0
<i>S. sobrinus</i> (ATCC 27607)	35,1	25,2	18,2	13,6	10,4	8,5	7,1	0	0	0
<i>S. sanguis</i> (ATCC 10557)	40,0	35,4	25,6	18,7	12,5	9,6	7,8	0	0	0
<i>L. casei</i> (ATCC 4646)	28,9	24,5	16,4	12,2	8,3	7,4	0	0	0	0

até as concentrações de 1,56%. No caso da cepa de *L. casei*, observou-se a inibição do seu crescimento até a concentração de 3,12%. Pode-se também observar que o *Streptococcus mutans* se mostrou o mais resistente à ação do óleo, pois apresentou um halo de inibição de 7,3 mm na concentração de 6,25%.

Os resultados deste trabalho vêm de encontro aos resultados obtidos por Kawata (2004), que desenvolveu estudos utilizando extratos de própolis associado ao extratos de *B. dracunculifolia* nas concentrações de 20%, quatro vezes ao dia, durante dez dias, cuja capacidade anticariogênica chegou a 76,1% para *S. mutans*. Os resultados de Kawata (2004) mostraram que a própolis associada a extratos de *B. dracunculifolia* foram eficazes no tratamento das lesões, quando comparados com um grupo controle de pacientes que utilizaram Nistatina. Em 1996, Gebara et al. *apud* DUARTE (2003), observaram *in vitro* a ação antibacteriana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*, que extratos de própolis, também de origem em *Baccharis dracunculifolia* exerciam atividade antibacteriana sobre as duas cepas testadas, e que o *S. mutans* se mostrou mais resistente (PARK 2000).

Não se pode deixar de considerar o grande potencial dos produtos de origem vegetal, em especial os óleos essenciais, utilizando-os como fornecedor de modelos de moléculas a serem testadas como biofármacos. Essas determinações devem estar sempre atreladas a estudos sazonais e de origem (onde e quando obter), pois, em alguns casos, a obtenção de moléculas de interesse farmacológico por síntese artificial torna-se inviável, fazendo-se necessária, por conseguinte a obtenção de compostos a partir de técnicas de extração de matrizes naturais complexas, como os óleos. Ainda, o uso da matriz como um todo é também proveitoso e promissor, considerando-se um possível sinergismo apresentado pelas moléculas que a constituem (BERMUDEZ, 1995).

Após a obtenção desses resultados, podemos verificar que os óleos essenciais surgem como um

dos possíveis propulsores, podendo incrementar a obtenção de novos compostos e, para isto, estudos que objetivem a determinação dos seus constituintes, aliada à sua composição química e efeitos farmacológicos e toxicológicos, tornam-se imperativos, possibilitando segurança na sua utilização e comercialização de produtos com seus componentes.

Conclusão

Após o desenvolvimento desse trabalho, usando as metodologias descritas, pode-se concluir que o óleo essencial produzido pela *Baccharis dracunculifolia* D.C (Asteraceae), apresenta atividade antimicrobiana sobre as bactérias cariogênicas *Streptococcus mutans* ATCC 2575, *Streptococcus sobrinus* ATCC 27607, *Streptococcus sanguis* ATCC 10557 e *Lactobacillus casei* ATCC 4646. Trabalhos posteriores devem dar ênfase à caracterização química desses óleos, objetivando mostrar as moléculas que exercem essa atividade antimicrobiana sobre esse grupo de microrganismos.

Referências

- BANKOVA, V. Chemical composition and antibacterial activity of brazilian propolis. **Z. Naturforsch C.** v. 50, p. 167-172, 1995.
- BERMUDEZ, J. A. Z. **Indústria farmacêutica, estado e sociedade.** São Paulo: Hucitec, 1995. 204 p.
- COCHRAN, D. L. Remoção de placa e cálculo: considerações para o profissional. São Paulo: **Quintessence**, p.1-29, 1996.
- DUARTE, C. A.; MARCONDES, P. C.; RAYEL, A. T. Transmissibilidade de microbiota bucal em humanos: repercussão sobre o dente e o periodonto: revisão da literatura. **Rev. Periodontia**, v. 4, p. 211-214, 1995.
- DUARTE, S. Effect of a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and adherence of *Streptococcus mutans*. **Biol. & Pharm. Bull.** v. 26, n. 4, p. 527-531, 2003.

GHISALBERTI, E. L. Própolis: a review. **Bee World**, v. 60, n. 2, p. 59-84, 1979.

GREGORY, R. L. Function of anti *Streptococcus mutans* antibodies: inhibition of virulence factors and enzyme neutralization. **Oral Microbiol. Immunol.** v. 5, p.181-188, 1990.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Biodiversidade**: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAM, G. (Org.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p.13-26.

HARDIE, J. M. Oral microbiology: current concepts in the microbiology of dental caries and periodontal disease. **Br. Dent. J.** v. 172, p. 271-278, 1992.

HIROSE, H. Close association between *Streptococcus sobrinus* in the saliva of young children and smooth surface caries increment. **Caries Res.** v. 27, p. 292-297, 1993.

JORGE, A. O. C. **Microbiologia bucal**. São Paulo: Santos, 1995. 121 p.

KAWATA, V. K. S. **Avaliação da citotoxicidade e efeito inibitório de extratos e frações de *Baccharis dracunculifolia* e Própolis Verde sobre a produção de ácidos e o crescimento celular de *Streptococcus mutans***. 2004. 135 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

KRASSE, B. Exame da saliva. In: **Risco de cáries**: guia prático para controle e assessoramento. São Paulo: Quintessence. p. 56-78, 1988.

Loretto, N. r. m. et. al. Cárie dentária no Brasil aspectos sociais, políticos e econômicos. **Ver. ABO**, v. 8, p. 45-49, 2000.
Lorscheider, J. A. et. al. Avaliação da atividade bactericida *in vitro* de óleos essenciais sobre bactérias cariogênicas. In: **Anais do 2º COSIMP**. UNIOESTE. p.120. 2004.

MARCUCCI, M. C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Quím. Nova**, v.19, n. 5, p. 529-536, 1996.

NCCLS - National Committee For Clinical Laboratory Standards - Approved standard M2-A7. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. 6. ed. Wayne, PA, 1997.

NCCLS - National Committee For Clinical Laboratory Standards - Approved standard M7-A5: **Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically**. 5. ed. Wayne, PA, 2000a.

NCCLS - National Committee For Clinical Laboratory Standards. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; tenth informational supplement M100-S10**. Wayne, PA, 2000b.

NASCIMENTO, A. M. et. al. Antimicrobial activity of extract and some compounds of *Calea platylepis*. **Fitoterapia**, v. 75, p. 514-519, 2004.

NARVAI, P. C. CASTELLANOS, R. A.; FRAZÃO, P. Prevalência de cárie em dentes permanentes de escolares do Município de São Paulo, SP, 1970-1996. **Rev. Saúde Pública**, v. 34, p.196-200, 2001.

OLIVEIRA, V. C.; BASTOS, E. M. Aspectos morfoanatômicos da folha de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae) visando à identificação da origem botânica da própolis. **Acta Bot. Bras.** v.12, n. 3, p. 431-439, 1998.

PARK, Y. K. Evaluation of brazilian propolis by both physicochemical methods and biological activity. **Science**, v. 21, n. 2, p. 85-90, 2000.

_____. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian Propolis. **J. Agr. Food Chem.** v. 52, n. 5, p.1100-1103, 2004.

PIZZOLITTO, A. C. et. al. Óleos essenciais com atividade antimicrobiana. **Rev. Fac. Farm. Odontol.** v. 6, n. 1, p. 19-22, 1972.

POZZETTI, G. L. et. al. Determinação da atividade antimicrobiana de plantas brasileiras. **Rev. Fac. Farm. Odontol.** v. 6, n. 1, p. 29-33, 1972.

SANTOS, M. A.; MESSAGE, D. Comportamento de abelhas africanizadas (*Apis mellifera* L.) na coleta de própolis em colônias de observação e em alecrim (*Baccharis dracunculifolia* D. C.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16. **Anais...** p. 90. 1997.

SANTOS, M. A. **Estudo de forrageamento de própolis em abelhas africanizadas, *Apis mellifera* L.** 1758. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 1996.

SORIANO, G. et. al. Relación entre los estúdios salivares y estado dentário em ninas. **Bol Asoc Argent Odontol Niños**, v. 31, p. 19-23, 2002.

WOISKY, R. G.; GIESBRECHT, A. M.; SALATINO, A. Atividade antibacteriana de uma formulação preparada a partir de própolis de *Apis Mellifera* L. **Rev. de Farm. e Bioq. USP.** v. 30, n.1, p.19-21, 1994.

Recebido em: 23/11/2006

Aceito em: 01/10/2007

Received on: 23/11/2006

Accepted on: 01/10/2007