

Atividade antimicrobiana de plantas medicinais indicadas para uso no Sistema Único de Saúde

Actividad antimicrobiana de las plantas medicinales para su uso en el Sistema Único de Salud

Antimicrobial activity of medicinal plants for their potential use in the Brazilian Unified Health System

Vanessa Feitosa Alves^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-6676-9037>

Rebeca Dantas Figueiredo¹ <https://orcid.org/0000-0003-0955-781X>

Yuri Wanderley Cavalcanti² <https://orcid.org/0000-0002-9732-6191>

Wilton Wilney Nascimento Padilha² <https://orcid.org/0000-0003-3056-9145>

¹Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa-PB, Brasil.

²Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Clínica e Odontologia Social. João Pessoa-PB, Brasil.

*Autor da correspondência: vanessafalves@hotmail.com

RESUMO

Introdução: No Brasil, uma lista contendo 71 ervas medicinais foi divulgada pelo Ministério da Saúde com intuito de conduzir pesquisas e desenvolvimento de fitoterápicos para uso no Sistema Único de Saúde.

Objetivo: Avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de extratos de ervas medicinais sugeridos pelo Ministério da Saúde para utilização no Sistema Único de Saúde frente a bactérias orais.

Métodos: Os extratos vegetais selecionados estavam na forma de óleo essencial (*Eucalyptus globulus*, *Mentha piperita* e *Schinus terebinthifolius*) ou tintura (*Erythrina mulungu*, *Casearia sylvestris* e *Maytenus ilicifolia*) e foram avaliados sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175),

S. oralis (ATCC 10557) e *S. salivarius* (ATCC 7073). Realizou-se o teste de difusão em ágar com confecção de poços e adição de 50 µL dos extratos. Após 48 h em estufa bacteriológica, os halos de inibição foram medidos através de paquímetro. Para determinação da concentração inibitória mínima e da concentração bactericida mínima, realizou-se a técnica de microdiluição em microplacas e de esgotamento, respectivamente. A concentração inibitória mínima correspondeu a menor diluição na qual se verificou ausência de crescimento bacteriano visível. O controle positivo utilizado foi Clorexidina 0,12 %. Todos os testes foram realizados em triplicata e analisados descritivamente.

Resultados: O extrato de *Maytenus ilicifolia* apresentou halos de inibição discretamente maiores aos demais produtos. *Erythrina mulungu* apresentou a menor da concentração inibitória mínima frente *S. mutans* (2,81 mg/mL) entre as tinturas e *Mentha piperita* (9,00), entre os óleos essenciais. *Erythrina mulungu* e *Mentha piperita* foram os únicos extratos que apresentaram concentração bactericida mínima frente às cepas utilizadas.

Conclusão: Os extratos vegetais apresentaram atividade antimicrobiana frente a microrganismos orais destacando *Mentha piperita* e *Erythrina mulungu*.

Palavras-chave: antimicrobianos; produtos naturais; biofilme dentário.

RESUMEN

Introducción: En Brasil, una lista de 71 hierbas medicinales fue divulgada por el Ministerio de Salud con la meta de llevar a cabo la investigación y desarrollo de medicinas basadas en hierbas para su uso en el Sistema Único de Salud.

Objetivo: Evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* de extractos de hierbas medicinales sugeridas por el Ministerio de Salud para su uso en el Sistema Único de Salud contra las bacterias bucales.

Métodos: Los extractos de plantas seleccionadas fueron en forma de aceite esencial (*Eucalyptus globulus*, *Mentha piperita* e *Schinus terebinthifolius*) o tintura (*Erythrina mulungu*, *Casearia sylvestris* e *Maytenus ilicifolia*) y se evaluaron en *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *S. oralis* (ATCC 10557) y *S. salivarius* (ATCC 7073). Se llevó a cabo la prueba de difusión en agar con la producción de los pozos y la adición de 50 µL de extractos. Después de 48 h en una incubadora bacteriológica, los halos de inhibición se midieron usando calibradores. Para determinar la concentración inhibitoria mínima y la concentración bactericida mínima, se empleó la técnica de microdilución en microplaca y el agotamiento, respectivamente. La concentración inhibitoria mínima correspondió a la dilución más baja en

la que no hubo ningún crecimiento bacteriano visible. El control positivo usado fue de clorhexidina 0,12 %. Todas las pruebas se realizaron por triplicado y se analizaron de manera descriptiva.

Resultados: Los extractos de *Maytenus ilicifolia* presentaron los halos de inhibición ligeramente superior a otros productos. *Erythrina mulungu* mostró la más baja concentración inhibitoria mínima frente a *S. mutans* (2,81 mg/mL) entre las tinturas y *Mentha piperita* (9,00) entre los aceites esenciales. Los extractos de *Erythrina* y *Mentha piperita* fueron los únicos que mostraron concentración bactericida mínima frente a las cepas utilizadas.

Conclusiones: Los extractos de plantas mostraron actividad antimicrobiana contra microorganismos bucales, entre los que se destacan *Mentha piperita* y *Erythrina mulungu*.

Palabras clave: antimicrobianos; productos naturales; placa dental.

ABSTRACT

Introduction: A list of 71 medicinal herbs has been published by the Brazilian Ministry of Health with the purpose of studying and developing medicines obtained from herbs for their potential use in the Unified Health System.

Objective: Evaluate the *in vitro* antimicrobial activity of extracts from medicinal herbs proposed by the Ministry of Health with a view to their possible use in the Unified Health System to combat oral bacteria.

Methods: Extracts were obtained from the plants selected in the form of essential oil (*Eucalyptus globulus*, *Mentha piperita* and *Schinus terebinthifolius*) or tincture (*Erythrina mulungu*, *Casearia sylvestris* and *Maytenus ilicifolia*), and were tested against *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *S. oralis* (ATCC 10557) and *S. salivarius* (ATCC 7073). The agar diffusion test was performed by making wells and adding 50 µL of the extracts. After 48 h in a bacteriological incubator, the inhibition haloes were measured with calipers. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration were determined by microplate microdilution and depletion technique, respectively. The minimum inhibitory concentration corresponded to the lowest dilution, at which there was no visible bacterial growth. The positive control used was 0.12% chlorhexidine. All the tests were performed in triplicate and analyzed descriptively.

Results: *Maytenus ilicifolia* extracts exhibited slightly higher inhibition haloes than the other products. *Erythrina mulungu* had the lowest minimum inhibitory concentration against *S. mutans* (2.81 mg/mL) among tinctures, and *Mentha piperita* (9.00) among essential oils.

Erythrina and *Mentha piperita* extracts were the only two displaying minimum bactericidal concentration against the strains used.

Conclusions: The study plant extracts displayed antimicrobial activity against oral microorganisms, particularly against *Mentha piperita* and *Erythrina mulungu*.

Keywords: antimicrobials; natural products, dental plaque.

Recebido: 29/02/2016

Aceito: 23/03/2019

INTRODUÇÃO

No Brasil, o Ministério da Saúde introduziu algumas políticas públicas que buscam a inclusão do uso de plantas medicinais no Sistema Único de Saúde tais como a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares, Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS).⁽¹⁾ Essas medidas são voltadas para prevenção, promoção e recuperação da saúde através de acesso seguro e uso racional de plantas medicinais.^(1,2)

Em 2009, o Ministério da Saúde elaborou a Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS, o RENISUS, que trata de uma lista com 71 espécies com potencial terapêutico para orientar pesquisas e desenvolvimentos de produtos de interesse do SUS. Com isso, pretende-se ampliar a lista de medicamentos fitoterápicos disponíveis na assistência farmacêutica básica no país.⁽³⁾

Considerando os problemas que acometem a cavidade bucal, o uso de plantas medicinais é baseado no conhecimento popular, sendo frequentemente empregadas como agentes antimicrobianos, anti-inflamatórios, analgésicos, entre outros.^(4,5) Entretanto, a validação do efeito biológico previsto pelo conhecimento popular nem sempre é confirmada cientificamente.

Diante da diversidade de problemas orais com etiologia microbiana, se faz necessário avaliar a atividade biológica de plantas medicinais frente microrganismos patogênicos de interesse oral. Sendo comprovada a atividade antimicrobiana e potencial de aplicabilidade na clínica odontológica, os resultados do presente estudo poderiam subsidiar o desenvolvimento de novas drogas e produtos cosméticos de origem natural. Logo, este estudo teve como objetivo

avaliar a atividade antimicrobiana de diferentes extratos de ervas medicinais sugeridos pelo Ministério da Saúde para utilização no SUS frente a bactérias orais.

MÉTODOS

A atividade antibacteriana de extratos de ervas medicinais sugeridos pelo MS foi avaliada *in vitro* por meio das técnicas de difusão em ágar e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM).

Extratos naturais

Os extratos de ervas medicinais avaliados advêm da lista com 71 ervas medicinais divulgada pelo MS para uso no SUS. Dentre essas, selecionou-se as que tinham origem no Brasil e estavam disponíveis comercialmente sob forma de tintura ou óleo essencial (OE). Seis extratos foram obtidos junto à farmácia de manipulação Homeovita (João Pessoa, Paraíba, Brasil) e à Empresa Viessence® (Florianópolis, Santa Catarina, Brasil). Os extratos de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), *Mentha piperita* (menta hortelã) e *Schinus terebinthifolius* (aroeira) foram obtidos sob forma de óleo essencial; enquanto que *Erythrina mulungu* (mulungu), *Casearia sylvestris* (guaçatonga) e *Maytenus ilicifolia* (espinheira santa) foram adquiridos na forma de tintura.

Cepas bacterianas

As cepas de referência utilizadas no estudo foram *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *S. oralis* (ATCC 10557) e *S. salivarius* (ATCC 7073), obtidas do Laboratório de Materiais de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro - RJ, Brasil).

O processo de reativação deu-se em caldo Sabouraud-Dextrose, a 37°C e a estocagem em ágar Sabouraud-Dextrose 4 % no Laboratório de Microbiologia Oral – Núcleo de Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba. As suspensões bacterianas foram preparadas em soluções salinas e ajustadas a escala de MacFarland 0,5. O número aproximado de colônias viáveis foi de $1,5 \times 10^6$ UFC/mL.

Método de difusão em ágar

Para avaliação inicial da atividade antibacteriana dos produtos, realizou-se o método de difusão em ágar. As suspensões bacterianas ($1,5 \times 10^6$ UFC/mL) foram semeadas em placas de Agar Müller Hinton (DIFCO®, Detroit, Michigan, EUA), nas quais foram confeccionados poços com 6 mm de diâmetro. Cada poço foi preenchido com 50 µL das soluções testadas e

do controle (Clorexidina 0,12 %), em formulação pura. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica, a 37 °C, por 48 h. Os extratos sob a forma de óleos essenciais e de tinturas foram avaliados em placas separadas, no intuito de diminuir possíveis interferências de um sobre outro. As zonas de inibição de crescimento bacteriano foram medidas em milímetros com auxílio de paquímetro e comparado ao controle positivo.

Concentração inibitória mínima

As tinturas foram adquiridas sob a concentração de 20 % correspondendo aproximadamente a 180 mg/mL. Já os óleos essenciais (OE) foram inicialmente diluídos em água destilada estéril e Tween 80, obtendo-se a concentração 16 %. Para obtenção das diluições dos OEs, foi considerada a densidade das substâncias igual a 0,9 g/mL, conforme especificações do fornecedor. Utilizou-se o método de diluição descrito por *Aligiannis et al.*⁽⁶⁾ e *Lima et al.*,⁽⁷⁾ no qual foram adicionados em tubos de vidro estéril: 0,8 mL do óleo essencial; 0,05 mL de Tween 80 (emulsificante); e 4,2 mL de água destilada estéril. O conjunto foi agitado durante 5 minutos em aparelho agitador de soluções tipo Vortex (Mod. AP56, Phoenix), sendo a concentração final obtida de 16 %, equivalente a 144 mg/mL. Para avaliação da concentração inibitória mínima (CIM), os óleos essenciais e tinturas foram diluídos de forma seriada, mediante emprego da técnica da microdiluição em caldo infuso de cérebro e coração (ICC). A determinação da CIM (NCCLS, 2013) foi realizada em placas de microdiluição com 96 poços (ALAMAR®, Diadema, São Paulo, Brasil), dispostos em 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H). Em cada um dos poços das placas de microdiluição foram inseridos 100 µL de caldo ICC duplamente concentrado. Em seguida, inseriu-se 100 µL das emulsões dos óleos essenciais e tinturas para obtenção da concentração inicial de 8 % e 10 %, respectivamente, na primeira linha da placa de microdiluição.

Em seguida, realizou-se diluição seriada dos produtos na placa de microdiluição, pela transferência de 100 µL do conteúdo ao poço subsequente, sendo obtidas concentrações de 10 % até 0,0625 %. Para os poços da linha H, foram dispensados 100 µL do conteúdo, de modo a igualar o volume total dos poços. As concentrações (em porcentagem e em mg/mL) dos produtos analisados após a diluição seriada são apresentadas no quadro.

A CIM correspondeu à última diluição dos óleos essenciais na qual não foi verificada a presença de precipitado bacteriano ou turvação no meio de cultura após o período de incubação. O controle positivo utilizado foi a solução de Clorexidina 0,12 %. O meio de cultura adicionado à suspensão bacteriana sem adição dos produtos naturais foi tomado

como controle de crescimento; enquanto o controle de esterilidade correspondeu à adição do meio de cultura estéril sem adição de inóculo bacteriano e de produtos avaliados.

Quadro - Diluições seriadas das tinturas e óleos essenciais obtidas pela técnica de avaliação antimicrobiana por microdiluição

Linhas	Óleo essencial		Tintura	
	Concentração (%)	Concentração (mg/mL)	Concentração (%)	Concentração (mg/mL)
A	8	72,0	10	90,0
B	4	36,0	5	45,0
C	2	18,0	2,5	22,5
D	1	9,0	1,25	11,25
E	0,5	4,5	0,625	5,625
F	0,25	2,25	0,3125	2,8125
G	0,125	1,125	0,1562	1,4062
H	0,0625	0,5625	0,0781	0,7031

Concentração bactericida mínima

A concentração bactericida mínima (CBM) foi obtida por meio do subcultivo, em Agar Müller Hinton, de alíquotas de 10 µL das diluições correspondentes a CIM e duas imediatamente anteriores (2CIM e 4CIM). Após a semeadura dos conteúdos dos poços das placas de microdiluição, as placas de petri foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C, por 24 h. A CBM foi considerada a menor concentração da substância que impediu o crescimento visível do subcultivo ou a formação de até três Unidades Formadoras de Colônia (UFC).

Todos os testes foram realizados em triplicata e os dados analisados descritivamente. Para o *screening* da atividade antibacteriana foi obtida a média dos halos de inibição através do software Excel®.

RESULTADOS

Os halos de inibição em milímetros para os produtos naturais testados frente às cepas bacterianas são descritos na tabela 1. A tintura *Maytenus ilicifolia* apresentou resultados discretamente superiores aos demais produtos. Dentre os óleos essenciais, *Eucalyptus globulus* foi o único OE que apresentou atividade antibacteriana significativa para todos os

microrganismos estudados, apresentando maior halo de inibição para *S. mutans* ($13,67 \pm 3,00$).

Tabela 1 - Valores das médias e desvio-padrão dos halos de inibição de crescimento provocado pelos produtos naturais analisados sobre as cepas bacterianas em mm

Produtos naturais	<i>S. mutans</i> (25175)	<i>S. oralis</i> (10557)	<i>S. salivarius</i> (7073)
Óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> (hortelã pimenta)	8,83 ± 4,5	0 ± 0,00	4,5 ± 3,5
Óleo essencial de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto)	13,67 ± 3,00	12,67 ± 3,0	5,1 ± 0,8
Óleo essencial de <i>Schinus terebinthifolius</i> (aroeira)	16,0 ± 3,0	9,0 ± 1,0	0 ± 0,00
Tintura de <i>Casearia sylvestris</i> (guaçatonga)	15,25 ± 1,5	12,25 ± 1,5	12,5 ± 2,5
Tintura de <i>Maytenus ilicifolia</i> (espinheira santa)	19 ± 2,0	13,5 ± 1,0	12,3 ± 2,5
Tintura de <i>Erythrinamulungu</i> (mulungu)	15 ± 0,0	12 ± 2,0	11,3 ± 2,0
Clorexidina (0,12 %)	20,5 ± 2,12	19,5 ± 0,70	20,0 ± 0,50

Os valores de CIM e CBM são apresentados, respectivamente, nas tabelas 2 e 3. A metodologia para obtenção da CIM foi validada pela ausência de crescimento bacteriano para o controle de esterilidade e controle positivo (Clorexidina 0,12 %), bem como pela presença de crescimento bacteriano para o controle de crescimento. Entre os produtos naturais, destaca-se atividade da tintura de *Erythrina mulungu* frente *S. mutans* (CIM= 2,81 mg/mL) e da tintura de *Casearia sylvestris* frente *S. oralis* (CIM= 0,7031).

Tabela 2 - Concentração inibitória mínima (mg/mL) dos produtos naturais analisados sobre as cepas bacterianas testes

Produtos naturais	<i>S. mutans</i> (25175)	<i>S. oralis</i> (10557)	<i>S. salivarius</i> (7073)
Óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> (hortelã pimenta)	9,00	9,00	9,00
Óleo essencial de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto)	72,00	18,00	9,00
Óleo essencial de <i>Schinus terebinthifolius</i> (aroeira)	72,00	72,00	72,00
Tintura de <i>Casearia sylvestris</i> (guaçatonga)	11,25	0,7031	11,25
Tintura de <i>Maytenus ilicifolia</i> (espinheira santa)	11,25	5,625	11,25
Tintura de <i>Erythrina mulungu</i> (mulungu)	2,812	11,25	11,25
Clorexidina (0,12 %)	0,5625	0,5625	0,5625

Tabela 3 - Concentração bactericida mínima (mg/mL) dos produtos naturais analisados sobre as cepas bacterianas testes

Produtos naturais	<i>S. mutans</i> (25175)	<i>S. oralis</i> (10557)	<i>S. salivarius</i> (7073)
Óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> (hortelã pimenta)	9,00	9,00	9,00
Óleo essencial de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto)	> 72,00	18,00	>72,00
Óleo essencial de <i>Schinus terebinthifolius</i> (aroeira)	>72,00	>72,00	>72,00
Tintura de <i>Casearia sylvestris</i> (guaçatonga)	>90,00	2,8125	11,25
Tintura de <i>Maytenus ilicifolia</i> (espinheira santa)	>90,00	11,25	11,25
Tintura de <i>Erythrina mulungu</i> (mulungu)	90,00	11,25	11,25
Clorexidina (0,12 %)	0,5625	0,5625	0,5625

A CIM variou de 72 mg/mL a 0,562 mg/mL, e CBM, 18 mg/mL a 2,8125 mg/mL. Apenas *Mentha piperita* e *Erythrina mulungu* apresentaram ação frente a todos os microrganismos orais no teste de CBM, e os únicos a mostrarem atividade bactericida frente a *S. mutans* (tabela 3). A Clorexidina (0,12 %) obteve ação sobre as todas as cepas nas menores concentrações avaliadas para o produto.

DISCUSSÃO

Cerca de 80 % da população brasileira utilizam produtos à base de plantas em seus cuidados com a saúde mediante uso popular, pela indicação de profissionais ou orientada pelos princípios e diretrizes do SUS.⁽²⁾ O incentivo do MS através do RENISUS⁽³⁾ e a maior aceitação de produtos naturais pela população⁽⁴⁾ tem provocado maior atenção para as pesquisas voltadas à investigação de uso de ervas medicinal na saúde, assim como desenvolvimento de novos fitoterápicos.

Estudos a respeito do tema não são recentes. Há muitos trabalhos sobre a ação de produtos naturais frente a biofilmes orais relatados na literatura.^(7,8,9,10,11) Segundo *Freires et al.*,⁽⁴⁾ 88 % desses trabalhos de evidências sobre potencial contra cárie são baseados em estudos *in vitro*. Apesar de estudos *in vitro* apresentarem limitações por não representarem fielmente a condição oral, se tornam válidos por assumirem papel de triagem ou funcionarem como estudo preliminar de produtos naturais.

Os extratos vegetais avaliados por este estudo apresentaram ação antimicrobiana frente às linhagens bacterianas utilizadas. Para o teste de difusão em ágar, todas as tinturas mostraram maior ação antibacteriana do que os óleos essenciais. Como a capacidade de difusão das soluções no ágar pode ser um interferente nesse teste, as tinturas podem apresentar esse resultado devido a uma melhor capacidade de difusão no meio.

Curiosamente, as tinturas apresentaram também melhores resultados para CIM e CBM devido às menores concentrações capazes de ação antibacteriana. Contudo, a técnica de microdiluição é mais sensível do que a técnica de difusão em ágar.⁽¹²⁾ No intuito de diminuir vieses metodológicos nesse teste e nas comparações entre os extratos testados utilizou-se controle positivo, de crescimento e de esterilidade em cada placa de microdiluição.

Para CIM, os extratos apresentaram grande variabilidade de concentração. *Mentha piperita* foi a que obteve as menores concentrações dentre os OEs. Suas propriedades medicinais e características antimicrobianas são bem estabelecidas na literatura.^(13,14,15,16) *Alves et al.*⁽¹⁵⁾ mostraram CIM frente a bactérias orais inferiores a encontrada no nosso estudo, variando de 1,25 mg/mL a 0,312 mg/mL. A *Mentha piperita* está presente na composição de cremes dentais comercializados atualmente, conhecidos como dentifrícios herbais.⁽¹¹⁾ E ainda, recentemente, proposta de incorporação de nanopartículas de prata no óleo essencial, com objetivo de maior atividade antimicrobiana, foi desenvolvida com êxito, mostrando alternativa de uso da menta hortelã na odontologia.⁽¹³⁾

Similarmente, *Eucalyptus globulus*, *Schinus terebinthifolius* e *Casearia sylvestris* também foram investigadas frente a microrganismos orais por outros estudos.^(15,17,18) Para CIM, os valores do OE de *Eucalyptus globulus* encontrados por esse estudo frente a *S.mutans* e *S.salivarius* foram maiores do que encontrados por outros estudos ambos microrganismos.^(15,17) *Goldbeck et al.*⁽¹⁷⁾ mostraram que o contato de 15 min do OE na concentração de 2 mg/mL foi capaz de induzir a morte de *S. mutans*. Diferentemente, este estudo não encontrou atividade bactericida do óleo de eucalipto nas concentrações estudadas, com exceção de *S. oralis*.

Freires et al.,⁽¹⁸⁾ encontraram atividade antibacteriana na concentração de 3,125 mg/mL para tintura de *Schinus terebinthifolius*, no entanto, o presente estudo não verificou atividade bactericida nas concentrações avaliadas e a CIM foi determinada pela maior concentração na diluição seriada. Um bochecho fitoterápico desenvolvido a base de aroeira apresentou, *in vivo*, potencial de diminuição da inflamação gengival, porém, não reduziu o acúmulo de biofilme.^(9,10) Assim, vê-se no *Schinus terebinthifolius* uma alternativa na terapêutica frente a

inflamações da cavidade bucal. Tal mecanismo de ação anti-inflamatória pode estar vinculado a sua capacidade de inibir seletivamente a fosfolipase A2.⁽¹⁹⁾

A *Casearia sylvestris*, por sua vez, pode ser utilizado para mau hálito, tratamento endodôntico⁽²⁰⁾ e em dentifrícios.⁽¹¹⁾ Em estudos pré-clínicos, não foi identificado efeitos tóxicos mesmo quando utilizado por longos períodos de tempo.⁽²¹⁾ Apresenta atividade antibacteriana frente diferentes linhagens bacterianas gram-positivas e gram-negativas; além de ter demonstrado ação antifúngica.⁽²²⁾ No presente trabalho, verificou-se atividade antibacteriana frente as cepas utilizadas. Outros estudos que avaliassem a *Casearia sylvestris* na formulação de tintura não foram encontrados na literatura.

Nogueira et al.⁽²³⁾ avaliando OE de *Mentha piperita* e *Casearia sylvestris*, observou que ao alterar a região de coleta das plantas como também o período de coleta, houve diferença na atividade antimicrobianas dos OEs. Para tanto, os autores deste trabalho revigoram a influência do preparo dos produtos naturais na sua atividade antimicrobiana. Sabe-se que fatores como sazonalidade, região geográfica, variabilidade genética, forma de armazenamento e a parte da planta utilizada na extração incidem na quantidade e qualidade de fitoconstituintes ao final dos extratos.^(4,24) Os produtos analisados nesse estudo foram obtidos comercialmente e não houve controle desses fatores o que pode ter levado a resultados desconformes e, até inferiores, daqueles encontrado na literatura.

Diferentemente das ervas descritas acima, as plantas *Maytenus ilicifolia* e *Erythrina mulungu* não foram investigadas para bactérias de biofilmes orais. Elas apresentam utilizações diversas. A espinheira santa tem ação analgésicas, cicatrizantes, diuréticas e laxativas, apresentando ação antibacteriana frente a gram-positivas e antifúngica. É usada principalmente em problemas gástricos e combate a *Helicobacter pylori*.⁽²⁵⁾ Já o Mulungu apresenta ação sedativa e hipotensiva,⁽²⁶⁾ porém não há trabalhos que investigaram sua ação contra microrganismos da cavidade bucal. Devido à ação sedativa, pode ser utilizada para inflamações orais. O presente estudo mostrou ação bactericida e bacteriostática do mulungu, o que pode está vinculada a presença de grande quantidade de fenóis e taninos encontrada através da prospecção fitoquímica de suas folhas no estudo de *Bona et al.*⁽²⁶⁾ Essas substâncias estão intimamente ligadas ao potencial antimicrobiano de plantas.⁽²⁷⁾ Não foram encontrados estudos com *Maytenus ilicifolia* e *Erythrina mulungu* sob forma de tinturas.

Foi *Erythrina mulungu* e a *Menta piperita*, as únicas a mostrarem atividade bacteriana frente a *S. mutans* na concentração estudada e, para tanto, podem ser denominadas como potencial

de uso para combate ao biofilme cariogênico, já que, é o *S. mutans*, o microrganismo considerado como o principal e resistente constituinte de biofilmes cariogênicos.⁽²⁸⁾

Observa-se na literatura uma tendência de uso de óleos essenciais a tinturas em estudos antimicrobianos. Ainda, alguns trabalhos mostram as tinturas como produtos naturais que apresentam concentração de princípios ativos inferiores aos óleos essenciais.⁽²⁹⁾ A extração de drogas vegetais para tinturas ocorre por meio de preparação alcoólica ou hidroalcoólica,⁽³⁰⁾ o que leva ao maior teor de álcool encontrado nessas formulações. Visto isso, os autores supõem que haja ação do álcool das tinturas na maior atividade antimicrobiana encontrada nesse estudo e em outro⁽³¹⁾ quando comparados a atividade dos óleos essenciais. O teor de álcool também deve ser levado em consideração, quando pensado em formulações para uso intra-oral tais como bochecho, sendo necessária avaliação de efeitos colaterais na mucosa oral.

Vê-se que as plantas medicinais tem potencial de uso odontológico, e por isso devem ser tomadas como alternativas nas terapêuticas no consultório. Para tanto, os CDs precisam conhecer as propriedades e ações dos produtos naturais frente a condições orais e acompanhar o desenvolvimento de novos produtos fitoterápicos.⁽³²⁾ Tornar disponíveis plantas medicinais e/ou produtos a base de ervas medicinais nas Unidades de Saúde da Família é significativo, pois estabelece novas opções de tratamento eficazes, seguras, de amplo acesso e baixo custo à população.

Os produtos naturais contidos na lista de ervas medicinais para uso no SUS avaliados por este trabalho apresentaram atividade antimicrobiana frente a microrganismos orais. De forma geral as tinturas apresentaram melhor ação antibacteriana do que os óleos essenciais destacando *Erythrina mulungu* no grupo das tinturas e *Mentha piperita* para OEs. Outros estudos *in vitro*, no entanto, devem ser realizados para melhor comprovação da ação antibacteriana considerando situações microbiológicas como biofilmes multiespécies, desafios de dieta e pH, entre outros fatores que mimetizam a cavidade oral. Avaliações toxicológicas e clínicas são, também, etapas importantes para verificar a viabilidade de uso das plantas medicinais na odontologia.

As plantas medicinais avaliadas e pertencentes à lista divulgada pelo MS para uso no SUS apresentaram atividade antimicrobiana frente a microrganismos orais e potencial para uso na odontologia. A *Mentha piperita* e *Erythrina mulungu* merecem destaque por apresentarem as menores CIM e CBM, além de serem as únicas a mostrarem atividade bactericida a todas as cepas bacterianas avaliadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde; 2012.
2. Batista LM, Valença AMG. A fitoterapia no âmbito da atenção básica no SUS: realidades e perspectivas. *Pesq Bras Odontoped Clín Integr*. 2012;12(2):293-6.
3. Brasil. Portal da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.
4. Freires IA, Denny C, Benso B, Alencar SM, Rosalen PL. Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: a systematic review. *Molecules*. 2015;20(4):7329-58.
5. Kumar G, Jalaluddin M, Rout P, Mohanty R, Dileep CL. Emerging trends of herbal care in dentistry. *J Clin Diagn Res*. 2013;7(8):1827-9.
6. Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou JB. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Origanum* Species. *J Agric Food Chem*. 2001;49(9):4168-70.
7. Lima IO, Oliveira RAG, Lima EO, Farias NMP, Souza EL. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. *Rev Bras Farmacogn*. 2006;16(2):197-201.
8. Karygianni L, Al-Ahmad A, Argyropoulou A, Hellwig E, Anderson AC, Skaltsounis LA. Natural antimicrobials and oral microorganisms: A systematic review on herbal interventions for the eradication of multispecies oral biofilms. *Front Microbiol*. 2016;6:1529.
9. Freires IA, Alves LA, Ferreira GLS, Jovito VDC, Castro RDD, Cavalcanti AL. A randomized clinical trial of *Schinus terebinthifolius* mouthwash to treat biofilm-induced gingivitis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;1-8. doi:10.1155/2013/873907
10. Lins R, Vasconcelos FHP, Leite RB, Coelho-Soares RS, Barbosa DN. Avaliação clínica de bochechos com extratos de Aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e Camomila (*Matricaria recutita* L.) sobre a placa bacteriana e a gengivite. *Rev Bras Pl Med*. 2013;15(1):112-20.
11. Smolarek PC, Esmerino LA, Chibinski AC, Bortoluzzi MC, Santos EB, Kozlowski VA. *In vitro* antimicrobial evaluation of toothpastes with natural compounds. *Eur J Dent*. 2015;9(4):580-6.

12. Scorzoni L, Benaducci T, Almeida AMF, Silva DHS, Bolzani VS, Mendes-Giannini MJS. Comparative study of disk diffusion and microdilution methods for evaluation of antifungal activity of natural compounds against medical yeasts *Candida* spp and *Cryptococcus* sp. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2007;28(1):25-34.
13. Ahmad A, Khan A, Samber N, Manzoor N. Antimicrobial activity of *Mentha piperita* essential oil in combination with silver ions. Synergy 2014;1(2):92-8.
14. Shalayel MHF, Asaad AM, Qureshi MA, Elhoussein AB. Anti-bacterial activity of peppermint (*Mentha piperita*) extracts against some emerging multi-drug resistant human bacterial pathogens. Journal of Herbal Medicine. 2017;7:27-30.
15. Alves LA, Freires IA, Castro RD. Efeito Antibacteriano de Óleos Essenciais sobre Bactérias Formadoras do Biofilme Dentário. Rev Bras Ciênc Saúde. 2011;14(2):57-62.
16. Singh R, Shushni MA, Belkheir A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Arabian Journal of Chemistry. 2015;8(3):322-8.
17. Goldbeck JC, Nascimento JE, Jacob RG, Fiorentini AM, Silva WP. Bioactivity of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis* against planktonic cells and biofilms of *Streptococcus mutans*. Industrial Crops and Products. 2014;60:304-9.
18. Freires IDA, Alves LA, Jovito VDC, Almeida LDFDD, Castro RDD, Padilha WWN. Atividades antibacteriana e antiaderente *in vitro* de tinturas de *Schinus terebinthinifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário. Odontol Clín-Cient. (Online). 2010;9(2):139-43.
19. Jain MK, Yu BZ, Rogers JM, Smith AE, Boger ET, Ostrander RL, et al. Specific competitive inhibitor of secreted phospholipase A 2 from berries of *Schinus terebinthinifolius*. Phytochemistry. 1995;39(3):537-47.
20. Jain P, Ranjan M. Role of herbs in intracanal medicaments. Int J Pharm Bio Sci. 2014;5(3):126-31.
21. Ameni AZ, Latorre OA, Torres LMB, Górnaiak SL. Toxicity study about a medicinal plant *Casearia sylvestris*: A contribution to the Brazilian Unified Health System (SUS). Journal of Ethnopharmacology. 2015;175:9-13.
22. Espinosa J, Medeiros LF, Souza AD, Güntzel ARDC, Rücker B, Casali EA et al. Ethanolic extract of *Casearia sylvestris* Sw exhibits *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities and *in vivo* hypolipidemic effect in rats. Rev Bras Pl Med. 2015;17(2):49-55.

23. Nogueira MA, Diaz MG, Tagami PM, Lorscheide J. Atividade microbiana de óleos essenciais e extratos de própolis sobre bactérias cariogênicas. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2009;28(1):93-7.
24. Chaves TP, Santana CP, Vêras G, Brandão DO, Felismino DC, Medeiros ACD, Trovão DMDB. Seasonal variation in the production of secondary metabolites and antimicrobial activity of two plant species used in Brazilian traditional medicine. Afr J Biotechnol. 2015;12(8): 847-53.
25. Oliveira RS, Cunha SC, Colaço W. Revisão da *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, Celastraceae. Contribuição ao estudo das propriedades farmacológicas. Rev Bras Farmacogn. 2009;19(2B):650-9.
26. Bona AP, Batitucci MCP, Andrade MA, Riva JAR, Perdigão TL. Estudo fitoquímico e análise mutagênica das folhas e inflorescências de *Erythrina mulungu* (Mart. ex Benth.) através do teste de micronúcleo em roedores. Rev Bras Pl Med. 2012;14(2):344-51.
27. Benbelaïd F, Khadir A, Abdoune MA, Bendahou M, Muselli A, Costa J. Antimicrobial activity of some essential oils against oral multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* in both planktonic and biofilm state. Asian Pac J Trop Biomed. 2014;4(6):463-72.
28. Klein MI, Hwang G, Santos PH, Campanella OH, Koo H. *Streptococcus mutans*-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. Front Cell Infect Microbiol. 2015;5(10):1-8.
29. Nascimento PFC, Nascimento ALC, Rodrigues CS, Antonioli AR, Santos PO, Barbosa-Júnior AM et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. Rev Bras Farmacogn. 2007;17(1):108-13.
30. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos de Farmacopeia Brasileira. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2012.
31. Vigo SC, Maringoni AC, Camara RDC, Lima GP. Ação de tinturas e óleos essenciais de plantas medicinais sobre o crestamento bacteriano comum do feijoeiro e na produção de proteínas de indução de resistência. Summa Phytopathologica. 2009;35(4):293-304.
32. Reis LBM, Farias AL, Bollella AP, Silva HKM, Canuto MIC, Zambelli JC, et al. Conhecimentos, atitudes e práticas de Cirurgiões-Dentistas de Anápolis-GO sobre a fitoterapia em odontologia. Rev Odontol UNESP. 2014;43(5):319-25.

Conflicto de interesse

Não apresentou conflito de interesses.

Contribuição

Vanessa Feitosa Alves: obtenção da amostra, experimento laboratorial, análise e escrita.

Rebeca Dantas Figueiredo: obtenção da amostra, experimento laboratorial e análise.

Yuri Wanderley Cavalcanti: análise e escrita.

Wilton Wilney Nascimento Padilha: Obtenção da amostra, análise e escrita.