

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM CLÍNICA INTEGRADA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DO
DENTIFRÍCIO À BASE DO EXTRATO ALCOÓLICO DE *Rosmarinus
officinalis* Linn. (ALECRIM) SOBRE CEPAS PADRÃO DE *S. mutans*,
S. aureus e *L. casei***

MARCELA AGNE ALVES VALONES

RECIFE-PE

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM CLÍNICA INTEGRADA
MARCELA AGNE ALVES VALONES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DO
DENTIFRÍCIO À BASE DO EXTRATO ALCOÓLICO DE *Rosmarinus
officinalis* Linn. (ALECRIM) SOBRE CEPAS PADRÃO DE *S. mutans*,
S. aureus e *L. casei***

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Mestrado em Clínica Integrada do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Clínica Integrada.

Orientadora: Profa.Dra. Alessandra de A. T. Carvalho

Co-orientadora: Profa.Dra. Jane Sheila Higino

RECIFE – PE

2008

Valones, Marcela Agne Alves

Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do dentifrício à base do extrato alcoólico de *Rosmarinus Officinalis* Linn. (ALECRIM) sobre cepas padrão de *S. mutans*, *S. aureus* e *L. casei* / Marcela Agne Alves Valones. – Recife : O Autor, 2008.

60 folhas : il., fig., tab.;

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Clínica integrada, 2008.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Fitoterapia. 2. Alecrim. 3. *Rosmaninus officinalis*. 4. Dentifrício . I. Título.

**616.31
617.601**

**CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)**

**UFPE
CCS2008-13**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Dr. José Thadeu Pinheiro

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

MESTRADO EM CLÍNICA INTEGRADA

COLEGIADO

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque T. Carvalho

Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes

Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente da Silva

Prof. Dr. Etenildo Dantas Cabral

Prof. Dr. Geraldo Bosco Lindoso Couto

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

Profa. Dra. Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

SECRETARIA

Oziclere de Araújo Sena

TÍTULO DO TRABALHO: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DO DENTIFRÍCIO À BASE DO EXTRATO ALCOÓLICO DE *Rosmarinus officinalis* Linn. (ALECRIM) SOBRE CEPAS PADRÃO DE *S. mutans*, *S. aureus* e *L. casei*

NOME DO ALUNO: MARCELA AGNE ALVES VALONES

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 29/03/2008

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente e Silva

Profa. Dra. Sílvia Regina Jamelli

Profa. Dra. Maria Carmeli Correia Sampaio

Recife –PE

2008

*“Quando prestamos atenção à música da
natureza, descobrimos que tudo na terra
contribui para a sua harmonia.”*

Gerard Manley Hopkins

DEDICATÓRIA

*Não sei se a vida é curta
ou longa demais para nós.
Mas sei que nada do que vivemos
tem sentido,
se não tocarmos o coração das pessoas.*

Cora Coralina

Aos meus pais Xisto e Neide, minhas maiores referências, pela sua prioridade em relação ao estudo e pelas lições de coragem e fé na vida.

Ao meu irmão Marcelo e tios Jonas, Jorge, Zezo, Nelbe e Nelma, pelo testemunho de fraternidade e de solidariedade nas tristezas e nas alegrias.

Ao meu noivo Luiz Felipe, companheiro dedicado e compreensivo, pelo incentivo para enfrentar o curso de mestrado, acreditando nos meus sonhos e desejos de aprendizagem.

A vovó Neuza, avó e mãe, pela presença, carinho e estímulo nesta caminhada.

AGRADECIMENTOS

*“E dar as mãos e dar de si além do
próprio gesto...”*

À Universidade Federal de Pernambuco, na pessoa do Pró-Reitor da Pós-Graduação Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado, pela qualidade do espaço da formação, enaltecendo o processo de construção de conhecimentos em benefício da ciência.

Ao Coordenador da Pós-Graduação Prof. Dr. Jair Carneiro Leão, pela presença constante nesta Coordenação, oferecendo apoio rigoroso e objetivo aos alunos e alunas que enveredam pelo caminho da pesquisa científica.

À Professora Alessandra de Albuquerque Tavares Carvalho, minha orientadora, por ter me proporcionado a presença constante, segura e de qualidade singular durante toda a elaboração da pesquisa.

À Professora Doutora e co-orientadora Jane Sheila Higino, por estar sempre suave, rigorosa e substancialmente participando do processo de minha formação como pesquisadora.

À professora do Departamento de Antibióticos Janete Magali de Araújo, pelo auxílio dedicado e carinhoso no desenrolar das dificuldades encontradas.

Ao meu irmão Marcelo Valones, pelo cuidado, carinho e apoio, em todos os sentidos, durante o curso.

À mamãe e papai, pelo amor e colaboração ao meu trabalho.

À vovó Neuza, pela acolhida calorosa e incentivadora nos momentos difíceis.

Aos professores e às professoras, aos alunos e às alunas que passaram na minha vida de estudante de graduação e pós-graduação, pelos momentos significativos lembrados e esquecidos de ensino e aprendizagem.

Aos meus amigos e às amigas do curso de mestrado- Alan Bruno, Andreza Lira, Anizabele Milet, Ana Karla, Bruno Cabral, Camila Beder, Cristiana da Fonte, Daniela Capri, Élvia Barros, Glauce Zamorano, Ísis Cedro (*in memorian*), Jouse Bezerra, Manuela Lopes, Renata Pedroza- pelas sugestões e trocas de idéias, experiências e preocupações comuns voltadas para a realização do curso.

À funcionária do Departamento de Antibióticos Fátima Regina, pelo auxílio enriquecedor nos testes laboratoriais da pesquisa.

À amiga do mestrado Renatinha, companheira jovem, criativa, inteligente e atenciosa, pela ajuda, pelo estímulo e pelas contribuições efetivas no meu trabalho.

Às amigas do mestrado Élvia e Cristiana, pela amizade e companheirismo no desenrolar de trabalhos em grupo durante o curso de mestrado.

À minha sócia Flavinha, pela compreensão, carinho e paciência na jornada de trabalho no consultório.

A todos do Departamento de Antibióticos da UFPE, pessoas que se tornaram inesquecíveis pelo trabalho associado à solidariedade, carinho e dedicação.

Aos funcionários da Pós-graduação e da Biblioteca da UFPE, pela disponibilidade no seu atendimento.

A todos e a todas que, de algum modo, participaram desta minha conquista.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS E TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

APRESENTAÇÃO

ARTIGO 1	15
Resumo	16
Abstract	17
Introdução	18
Materiais e métodos	20
Resultados	21
Discussão	24
Conclusão	27
Referências Bibliográficas	28
ARTIGO 2	32
Resumo	33
Abstract	35
Introdução	37
Materiais e métodos	40
Resultados	43
Discussão	46
Conclusão	49
Referências Bibliográficas	51
Anexos.....	55
Norma da Revista Microbiological Research.....	55
Normas da Revista Oral Health & Preventive Dentistry.....	60

LISTA DE QUADROS E TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1: Halo de inibição (mm) do extrato alcoólico de *Rosmarinus officinalis* Linn (Alecrim) para *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Lactobacillus casei*..... 22

Tabela 2: Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) ($\mu\text{g/ml}$), em meio sólido, do extrato alcoólico de *Rosmarinus officinalis* Linn (Alecrim) para *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Lactobacillus casei*..... 24

ARTIGO 2

Tabela 1: Composição, função e quantidade da formulação do dentifrício à base do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. (p/100g do produto).....40

Tabela 2: Comparação entre as médias dos halos de inibição (mm) dos CDA, CDB, CDC⁺ e CDC⁻ controlando o tipo de bactéria.....44

Tabela 3: Comparação entre as médias do halo de inibição (mm) dos CDA e CDB controlando o tipo de bactéria e a diluição do sobrenadante46

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

- Figura 1:** Halo de inibição do extrato alcoólico de *Rosmarinus officinalis* Linn. (Alecrim) para *S. aureus*.....23
- Figura 2:** Halo de inibição do extrato alcoólico de *Rosmarinus officinalis* Linn. (Alecrim) para *S. mutans*.....23

LISTA DE ABREVIATURAS

ARTIGO 1

RDC (Resolução de Diretoria Colegiada).....	18
CIM (Concentração Inibitória Mínima).....	20

ARTIGO 2

CRD (Creme dental).....	39
CDA (Creme dental A: à base de alecrim).....	40
CDB (Creme dental B: Sorriso Herbal com Própolis [®]).....	40
CDC⁺ (Creme dental controle positivo: Colgate Total 12 [®]).....	41
CDC⁻ (Creme dental controle negativo: Philips [®]).....	41

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação foi estruturada sob a forma de artigos científicos para serem enviados a revistas especializadas na área de Odontologia. Para tal, foram utilizados e explorados bancos de dados disponíveis em rede (on line), além de revistas impressas e livros didáticos. Foram escritos dois artigos o primeiro constitui uma pesquisa intitulada **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ALCOÓLICO DE *Rosmarinus officinalis* Linn. (ALECRIM) SOBRE BACTÉRIAS DA CAVIDADE ORAL (*S. mutans*, *S. aureus* e *L. casei*)**, a ser encaminhado para a Revista Microbiological Research. Nesse artigo, abordou-se a atividade do extrato de alecrim sobre bactérias importantes na etiologia de afecções bucais através da realização de teste laboratorial antimicrobiano. A relevância do estudo evidencia-se na possibilidade da criação de terapia natural para o combate de tais doenças.

O segundo artigo, também de pesquisa, é intitulado **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DO DENTIFRÍCIO À BASE DO EXTRATO ALCOÓLICO DE *Rosmarinus officinalis* Linn. (ALECRIM) SOBRE CEPAS PADRÃO DE *S. mutans*, *S. aureus* e *L. casei***. O mesmo extrato, anteriormente testado, foi incorporado a um dentifrício e avaliado em laboratório para verificar se existem propriedades antimicrobianas sobre as bactérias testadas. Este artigo será encaminhado para a Revista Oral Health & Preventive Dentistry. Este estudo torna-se relevante, pois sabe-se da importância da utilização de plantas com propriedades medicinais nas ciências médicas e odontológicas, vez que alguns extratos e derivados desses vegetais, ao serem incorporados aos dentifrícios, apresentam efeito inibitório sobre a formação do biofilme dentário e, conseqüentemente, da cárie.

ARTIGO 1

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ALCOÓLICO DE *Rosmarinus officinalis* Linn. (ALECRIM) SOBRE BACTÉRIAS DA CAVIDADE ORAL (*S. mutans*, *S. aureus* e *L. casei*)

Marcela Agne Alves **VALONES***

Janete Magali de **ARAÚJO****

Jane Sheila **HIGINO*****

Alessandra de Albuquerque Tavares **CARVALHO******

*Aluna da Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE);

**Profª. Dra. do Departamento de Antibióticos da UFPE

***Profª. Dra. do Curso de Farmácia da UFPE;

****Profª. Dra. do Curso de Mestrado em Odontologia da UFPE;

*Marcela Agne Alves Valones; Rua Quarenta e oito, 395, apto.201, Espinheiro, Recife, Pernambuco, Brazil; CEP 52020-060; mavalona@hotmail.com.br; Phones: 0xx8134260449, 8132222883, 8192528488

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do extrato alcoólico de *Rosmarinus officinallis* Linn. (Alecrim) sobre bactérias da cavidade oral, causadoras de patologias desta região. Para o estudo, utilizaram-se cepas padrão de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Lactobacillus casei* (ATCC 7469) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 9811), tendo como controle positivo a clorhexidina 0,12%. Folhas de alecrim foram tratadas com etanol, obtendo-se um extrato, e esse, rotaevaporado até a secura e diluído até 1:8 para a realização do Teste de Difusão em Ágar. Neste teste, placas de Petri foram semeadas com as bactérias e discos de papel embebidos com o extrato e suas diluições colocados sobre as placas. Em seguida, tais placas foram incubadas de acordo com as exigências de crescimento das bactérias, sendo os halos de inibição analisados. Observaram-se halos para *S. mutans* e *S. aureus* similares ao controle positivo clorhexidina, enquanto a CIM foi 30µg/ml para *S. aureus* e 50µg/ml para *S. mutans* e *L. casei*, resultados esses melhores do que os da literatura para o extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. Assim, o extrato alcoólico de alecrim apresenta atividade antimicrobiana sobre bactérias da cavidade bucal e pode ser empregado como apoio à prevenção e terapia das doenças cárie e periodontal.

PALAVRAS-CHAVE: Fitoterapia; Alecrim; *Rosmarinus officinalis*

ABSTRACT

The aim of the present study was to assess the antimicrobial activity of a rosemary alcohol extract on pathology-causing bacteria in the oral cavity. Standard strains of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Lactobacillus casei* (ATCC 7469) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 9811) were used, with 0.12% chlorhexidine as the positive control. Rosemary leaves were treated with ethanol, thereby obtaining an extract, which was rotaevaporated until safe and diluted to 1:8 for the diffusion test in agar. Petri dishes were sown with the bacteria and paper disks soaked in the extract and its dilutions were placed on the dishes. The dishes were then incubated in accordance with the growth requirements of the bacteria and inhibition halos were analyzed. Halos for *S. mutans* and *S. aureus* were similar to the chlorhexidine positive control. Minimal inhibitory concentration was 30µg/ml for *S. aureus* and 50µg/ml for *S. mutans* and *L. casei*. These results are better than those reported in the literature for *Rosmarinus officinalis* extracts. Thus, the rosemary alcohol extract exhibits antimicrobial activity on oral cavity bacteria and can be employed as support to therapy in caries and periodontal disease.

KEY WORDS: Phytotherapy; Rosemary; *Rosmarinus officinalis*

INTRODUÇÃO

Etimologicamente, Fitoterapia vem do grego *phytos*, que significa plantas e terapia, “cuidado” ou “tratamento”. Segundo Sarti e Carvalho (2004), ela é um ramo da ciência médica alopática, que utiliza plantas, drogas vegetais e emulsões para o tratamento de enfermidades. As plantas medicinais possuem metabólitos secundários bioativos utilizados para prevenir, mitigar ou curar doenças (Sallé, 1996).

Os fitoterápicos encontrados no mercado farmacêutico nas formas líquidas (tinturas, extratos, xaropes, emulsões); semi-sólidas (pomada, cremes e géis) e sólidas (cápsulas, comprimidos e drágeas) devem conter marcadores fitoquímicos e farmacológicos, como referência para atender à Resolução-RDC (Resolução de Diretoria Colegiada) nº17 (fevereiro/2000) de medicamentos fitoterápicos (Carvalho, 2004).

Durante o processamento, verifica-se que os extratos brutos de plantas contêm uma mistura complexa de compostos e altas concentrações de componentes específicos extraídos da planta (Johnson et al., 2001).

O uso de extrato de plantas e fitoquímicos, com propriedades antimicrobianas, têm um grande significado no tratamento terapêutico. Nos últimos anos, várias pesquisas têm comprovado a eficiência desses extratos, em decorrência principalmente da ação antimicrobiana de seus metabólitos secundários (Artizzu et al., 1995; Izzo et al., 1995; Shapoval et al., 1994; Kubo et al., 1993; Sousa et al., 1991). Entre essas plantas, *Rosmarinus officinallis*

Linn., popularmente conhecida como “alecrim” exibe propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anticárie (Aruoma et al., 1997; Kikuzari e Nikatani, 1993). Dietas que incluem tal antioxidante natural são reconhecidas pela redução do risco de certas doenças crônicas, como câncer e doença cardiovascular (Priyadarsini, 1997). Essas propriedades ocorrem naturalmente, não só no processamento de alimentos, mas também, em misturas funcionais formuladas para uso farmacêutico e para a indústria cosmética.

O extrato de alecrim apresenta um ótimo potencial antimicrobiano, indicativo da sua utilização no tratamento de doenças infecciosas causadas por microrganismos resistentes. O efeito sinérgico da associação de antibióticos com extratos de plantas contra bactérias resistentes induz a novas chances de tratamento de doenças infecciosas (Del-Campo et al., 2000; Nascimento et al., 2000).

Na Odontologia, vêm sendo utilizadas substâncias naturais com propriedades terapêuticas com o objetivo de controlar o biofilme dentário composto por predominantemente *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus casei*, além de *Staphylococcus aureus*, patógeno oportunista da cavidade bucal. O *S. mutans* e o *L. casei* estão envolvidos no processo de formação e progressão da cárie dentária, respectivamente, e o *S. aureus*, com a gênese de abscessos periapicais (Martins et al., 2002; Buischi, 2000).

Dessa forma, substâncias com potente atividade antimicrobiana, capazes de interferir no desenvolvimento do biofilme, e que apresentem efeitos colaterais reduzidos, são importantes para a Odontologia. Nesse contexto, surgem os agentes naturais, tais como os extratos vegetais, que são

economicamente viáveis e constituem alternativas eficazes para afecções bucais (Pereira, 2002; Moran et al., 1992).

Assim, baseado nas considerações acima, o presente estudo teve a proposta de avaliar a atividade antimicrobiana do extrato alcoólico do alecrim sobre bactérias bucais, como *S. mutans*, *S. aureus* e *L.casei*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. (Alecrim)

O material botânico foi adquirido no Mercado Central de São José (Recife-PE) e identificado através de comparação com material já depositado por Bento Pickel nº1641 no Herbário do Instituto de Pesquisas Agrícolas de Pernambuco (IPA).

Após serem lavados e secados à temperatura ambiente, folhas e caules foram pesados (320g) e macerados em 1L de etanol durante 30 dias, sob refrigeração. Em seguida, o extrato foi filtrado e rotaevaporado até a secura, sob uma temperatura de 40°C, obtendo-se um extrato seco, o qual foi dividido para testes microbiológicos, toxicológicos e fitoquímicos e mantido sob refrigeração durante os intervalos dos testes.

Avaliação microbiológica do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn (Alecrim)

A atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* Linn. foi determinada através do método de Difusão em Ágar, seguida da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) utilizando as bactérias *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Staphylococcus aureus* ATCC 9811 e

Lactobacillus casei ATCC 7469 da Coleção do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

Teste antimicrobiano do extrato

Para o teste antimicrobiano, adotou-se a técnica de Difusão em Ágar segundo Bauer et al., (1966). Foram utilizadas placas de Petri contendo 10ml de meio BHI (Brain Heart Infusion – DIFCO®), inoculadas com suspensões das bactérias *S. mutans*, *S. aureus* e *L. casei*. Solução do extrato alcoólico da planta na concentração de 3000mg/ml foi diluída (1:2, 1:4 e 1:8) e adicionados 60µl aos discos de antibiograma estéreis. Em seguida, colocaram-se os discos nas placas já inoculadas com as bactérias-testes. Como controle, utilizou-se gluconato de clorhexidina (Periogard®). Em seguida, as placas foram cultivadas na estufa a 37°C por 48 horas, o *S. mutans* colocado em condições de microaerofilia e os demais, em condições de aerobiose. O teste foi realizado em duplicata para cada cultura utilizada, seguido da leitura do halo de inibição.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Determinou-se a quantificação da atividade antimicrobiana do extrato alcoólico da planta através da Concentração Inibitória Mínima (CIM) sobre as mesmas bactérias utilizadas e concentrações variadas adicionadas em Placas de Petri. Em seguida, foi realizada a inoculação, por estria, das bactérias padrões. O cultivo realizado nas mesmas condições do experimento anterior.

RESULTADOS

Os resultados da atividade antimicrobiana do extrato alcoólico de alecrim e da clorhexidina sobre bactérias bucais podem ser observados nas tabelas 1 e 2. As figuras 1 e 2 são representativas da ação antimicrobiana do extrato e da clorhexidina sobre *S. aureus* e *S. mutans*, respectivamente.

Tabela 1: Halo de inibição (mm) do extrato alcoólico de *Rosmarinus Officinalis* Linn. (alecrim) para *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Lactobacillus casei*

LINHAGENS DE BACTÉRIAS	EP ¹	DILUIÇÕES DO EXTRATO			CLORHEXIDINA 0,12%
		1:2	1:4	1:8	
<i>S. mutans</i>	16 ²	16	15	14	14
<i>S. aureus</i>	16	15	15	13	17
<i>L. casei</i>	17	16	14	12	25

¹ Extrato puro

² Halo de inibição em mm

Os resultados obtidos com o extrato alcoólico de *Rosmarinus officinalis* Linn. mostram ser ele tão eficiente quanto o controle positivo. Como pode ser observado pelo halo de inibição, apresentado para *S. mutans* e *S. aureus*, que foram de 16mm, e até a diluição de 1:8 ainda foram observados halo de 14 e 13mm, respectivamente. Para clorhexidina estes halos foram, respectivamente, 14 e 17mm para *S. mutans* e *S. aureus*.

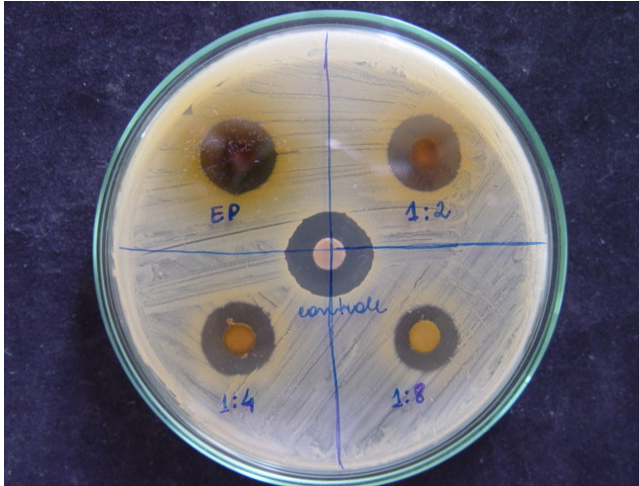


Figura 1: Halo de inibição do extrato alcoólico de *Rosmarinus officinalis* Linn.(Alecrim) para *S. aureus*

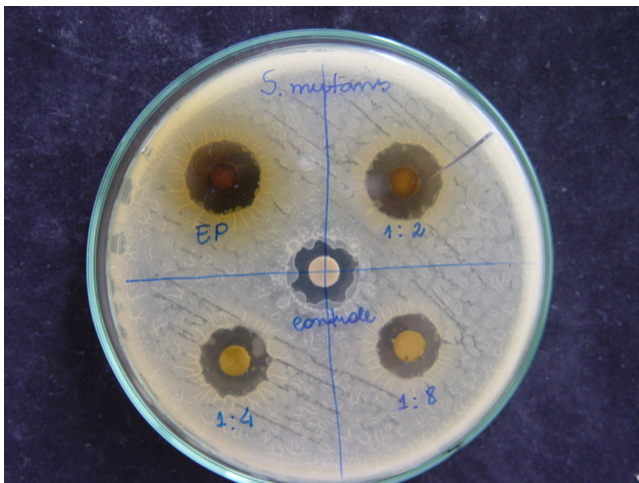


Figura 2: Halo de inibição do extrato alcoólico de *Rosmarinus officinalis* Linn.(Alecrim) para *S. mutans*

Os resultados da CIM do extrato alcoólico de *Rosmarinus officinalis* Linn. para as bactérias estão expressos na tabela 2.

Tabela 2: Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) ($\mu\text{g/ml}$), em meio sólido, do extrato alcoólico de *Rosmarinus Officinalis* Linn (alecrim) para *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Lactobacillus casei*.

LINHAGENS BACTERIANAS	CONCENTRAÇÃO DO EXTRATO ($\mu\text{g/ml}$)				
	20	30	50	100	200
<i>S. mutans</i>	+	+	-	-	-
<i>S. aureus</i>	+	-	-	-	-
<i>L. casei</i>	+	+	-	-	-

(+) Crescimento (-) Ausência de crescimento

A CIM do extrato alcoólico mostrou uma boa atividade para *S. aureus*, com uma CIM de $30\mu\text{g/ml}$, enquanto para *S. mutans* e *L. casei* a CIM foi de $50\mu\text{g/ml}$.

DISCUSSÃO

O extrato alcoólico de *Rosmarinus officinalis* Linn. se mostrou tão eficiente quanto o controle positivo, pois os halos de inibição, apresentado para *S. mutans* e *S. aureus* foram de 16mm, e até a diluição de 1:8 ainda foram observados halo de 14 e 13mm, respectivamente. Para clorhexidina estes halos foram, respectivamente, 14 e 17mm para *S. mutans* e *S. aureus*.

A CIM do extrato alcoólico mostrou uma boa atividade para *S. aureus*, com uma CIM de $30\mu\text{g/ml}$, enquanto para *S. mutans* e *L. casei* a CIM foi de

50µg/ml. Comparando tal resultado com o estudo de Del-Campo, Amiot, Nguyen-The (2000), que avaliaram a CIM de extrato semelhante para várias bactérias gram-positivas, verifica-se a CIM de 0,25% e 0,5% para *S. mutans* e *S. aureus*, respectivamente, ou seja, 2,5mg/ml e 5mg/ml. Os autores utilizaram um extrato de alecrim disponível comercialmente para tal estudo.

O efeito antimicrobiano ocorrido no estudo de Del-Campo, Amiot, Nguyen-The (2000), evidenciou-se mais em baixa temperatura. Um total de 0,5% do extrato foi necessário para inibir *S. aureus* em 30⁰C, ao passo que 0,13% inibiu bactérias em 10⁰C.

Observou-se que o extrato de alecrim apresenta significativa capacidade de inibir o crescimento de bactérias bucais, como *S. mutans*, *S. aureus* e *L. casei*, sendo *S. aureus* a mais sensível quando comparada à clorhexidina. Essa afirmação torna o alecrim um agente natural com potente atividade antimicrobiana, capaz de constituir uma alternativa eficaz para as afecções bucais. Soares et al., (2006) realizaram estudos semelhantes utilizando tinturas fitoterápicas (própolis, jucá, aroeira, gengibre, alfavaca e hortelã) contra bactérias bucais e obtiveram uma maior susceptibilidade do *S. aureus* a esses fitoterápicos de uma maneira geral. O *S. mutans* e o *L. casei* foram inibidos pelas tinturas de jucá, aroeira, própolis e hortelã.

De acordo com Matos (1998), o alecrim é composto por flavonóides, fenóis, óleos voláteis e terpenóides. Cada componente apresenta uma função, o que caracteriza o vegetal em foco como planta medicinal. Seu extrato apresenta alta atividade antimicrobiana e antioxidante provavelmente devido à presença de compostos fenólicos em sua composição (Del-Campo et al., 2000; Zhu et al., 1998; Basaga et al., 1997; Frankel et al., 1996; Moujir et

al., 1993; Colins e Charles, 1987). Os óleos voláteis apresentam atividades antibacterianas, antifúngicas e espasmolíticas, os terpenóides são antibacterianos e os flavonóides têm ação antioxidante. Cowan (1999), por sua vez, também mostrou a atividade antimicrobiana do alecrim através de um trabalho de revisão. Ele demonstrou a atividade antimicrobiana de várias espécies vegetais, relacionando as classes de substâncias químicas presentes em extratos obtidos com diferentes solventes. Esse considera ainda relevante o óleo essencial do alecrim e sua atividade sobre bactérias gram-positivas e negativas, vírus, fungos e protozoários e, atribui tal atividade principalmente aos terpenóides.

Entre todos os microrganismos testados por Del-Campo et al., (2000), as bactérias gram-positivas revelaram-se as mais sensíveis ao extrato de alecrim, corroborando com o presente estudo. Farbood et al., (1976) e Shelef (1983) também verificaram que esse extrato e o de outras plantas da família Labiatae foram inativos sobre bactérias gram-negativas. De acordo com Davidson (1993), as Gram-positivas são geralmente mais susceptíveis a compostos fenólicos apolares existentes nestas plantas do que as gram-negativas.

Nascimento et al., (2000) avaliaram a atividade do extrato alcoólico de alecrim associado a antibióticos sobre diversos microrganismos resistentes, dentre eles, *S. aureus*. Observaram eles que apresentou atividade quando utilizado isoladamente e quando associado a pequenas concentrações aos antibióticos inativos.

CONCLUSÃO

O extrato alcoólico de alecrim apresentou atividade antimicrobiana satisfatória sobre as bactérias da cavidade bucal, *S. mutans*, *S. aureus* e *L. casei*, envolvidas na gênese e progressão de patologias como a cárie e abscessos periapicais. Esse achado demonstra a eficácia do alecrim contra bactérias bucais, sugerindo que os ingredientes de origem vegetal podem ser empregados como apoio à terapia das doenças cárie e periodontal, por serem economicamente viáveis e redutores dos efeitos colaterais das substâncias administradas na cavidade bucal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) ARTIZZU N, BONSIGNORE L, COTTGLIA F, LOY G. Studies of the diuretic and antimicrobial activity of *Cynodon dactylon* essential oil. *Fitoterapia*. 1995; 66:174-75.
- 2) ARUOMA OI, SPENCER JPE, WARREN D, JENNER P, BUTLER J, HALLIWELL B. Characterization of food antioxidants, illustrated using commercial garlic and ginger preparations. *Food Chem*. 1997; 60:149-56.
- 3) BASAGA H, TEKKAYA C, ACIKEL F. Antioxidative and free radical scavenging properties of rosemary extract. *Lebensmittel-Wiss. Technol.* 1997;30:105-108.
- 4) BUISCHI YP. Promoção de saúde bucal na clínica odontológica. São Paulo: Artes Médicas; 2000. p.45-50.
- 5) BAUER AW, KIRBY WMM, SHERRIS JC, TURC M. Antibiotics susceptibility test by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol*. 1966; 45: 493-96.
- 6) CARVALHO JCT. Considerações gerais sobre fitoterápicos. In: CARVALHO, JCT. *Fitoterápicos antiinflamatórios: Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas*. São Paulo:Tecmedd; 2004. p.43-47.
- 7) COLLINS M and CHARLES HP. Antimicrobial activity of carnosol and ursolic acid: two anti-oxidant constituents of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Microbiol*. 1987; 4:311-315.
- 8) COWAN MM. Plants products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev*. 1999; 12:564-582.
- 9) DAVIDSON PM. Parabens and phenolic compounds. In: DAVIDSON, PM; BRANEN, AL. *Antimicrobial in foods*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1993.

- 10) DEL CAMPO J, AMIOT MJ, NGUYEN-THE C. Antimicrobial Effect of Rosemary Extracts. J. Food Prot. 2000; 63:1359-68.
- 11) FARBOOD MI, MAcNEIL JH, OSTOVAR K. Effect of rosemary spice extractive on growth of microorganisms in meats. J. Milk Food Technol. 1976; 39: 675-679.
- 12) FRANKEL EN, HUANG SW, AESCHBACH R, PRIOR E. Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. J. Agric. Food Chem. 1996; 44:131-135.
- 13) IZZO AA, Di CARLO G, BISCARDI D, FUSCO R, MASCOLO N, BORRELI F, CAPASSO F, FASULO MP, AUTORE G. Biological screening of Italian medicinal plants for antibacterial activity. Phytother. Res. 1995; 9:281-86.
- 14) JOHNSON BM, BOLTON JL, VAN BREEMEN RB. Screening Botanical Extracts for Quinoid Metabolites. Chem. Res. Toxicol. 2001; 14:1546-51.
- 15) KIKUZARI H and NIKATANI N. Antioxidants effects of some ginger constituents. J. Food Sci. 1993; 58:1407-10.
- 16) KUBO L, MUROI H, HIMEJIMA M. Structure-antibacterial activity relationships of anacardic acids. J. Agri. Food Chem. 1993; 41:1016-19.
- 17) 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.
- 18) MATOS FJA. Farmácias vivas. Fortaleza: UFC, 1998. p.18-20.
- 19) MORAN J, ADDY M, ROBERTS S. A comparison of natural product, triclosan and clorexidine muthrinses on 4-day plaque regrowth. J Clin Periodont. 1992; 19:578-82.

- 20) MOUJIR L, GUTIERREZ-NAVARRO AM, SAN ANDRES L, LUIS JG. Structure-antimicrobial activity relationships of abietane diterpenes from *Salvia* species. *Phytochemistry*. 1993; 14:1493-95.
- 21) NASCIMENTO GGF, LOCATELLI J, FREITAS PC, SILVA GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemical on antibiotic-resistant bacteria. *Braz J Microbiol*. 2000;31:247-56.
- 22) PEREIRA JV. Estudos com o extrato da *Punica granatum* Linn. (romã): efeito antimicrobiano *in vitro* e avaliação clínica de um dentifrício sobre microorganismos do biofilme dental. João Pessoa, 2002. [Tese de Doutorado- Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal da Bahia].
- 23) PRIYADARSINI KI. Free radical reactions of Curcumin in membrane models. *Free Radical Biol Med*. 1997; 23:838-43.
- 24) SALLÉ JL. O Totum em Fitoterapia: abordagem de fito-bioterapia. São Paulo: Robe, 1996. p.15-20.
- 25) SARTI SJ and CARVALHO JCT. Fitoterapia e Fitoterápicos. In: CARVALHO JCT. Fitoterápicos anti-inflamatórios: Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. São Paulo: Tecmedd, 2004. p.13-38.
- 26) SHAPOVAL EES, SILVEIRA SM, MIRANDA ML, ALICE CB, HENRIQUES AT. Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora*. *J. Ethnopharmacol*. 1994; 44:136-42.
- 27) SHELEF LA. Antimicrobial effects of spices. *J. Food Safety*. 1983; 6: 29-44.
- 28) SOARES DGS, OLIVEIRA CB, LEAL C, DRUMOND MRS, PADILHA WWN. Susceptibilidade *in vitro* de bactérias bucais a tinturas fitoterápicas. *Revista Odonto Ciência-Fac. Odonto/PUCRS*. 2006; 21:232-37.

29) SOUSA M, PINHEIRO C, MATOS MEO, MATOS FJ, LACERDA MI, CRAVEIRO AA. Constituintes químicos de plantas medicinais brasileiras. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 1991. p.385-88.

30) ZHU BT, LODER DP, CAI MX, HO CT, HUANG MT, CONNEY AH. Dietary administration of an extract from Rosemary leaves enhances the liver microsomal metabolismo of endogenous estrogens and decreases their uterotrophic action in CD-1 mice. Carcinogenesis. 1998; 19:1821-27.