

## USO DO CHÁ DE *Punica granatum* (ROMÃ) NO CONTROLE DA ADERÊNCIA DE BACTÉRIAS ORAIS EM LIGADURAS ORTODÔNTICAS

Use of *Punica granatum* tea (pomegranate) to control oral bacteria adherence on orthodontic ligatures

Fabiane **SCHREINER\***, Giuliano **RETZLAFF\***, Márcia Fernanda de Rezende **SIQUEIRA\***, Eluise Cristina de **REZENDE\*\***, Luzia Chaves **SIMÃO\*\*\***, Vitoldo Antônio **KOZLOWSKI-JUNIOR\*\*\*\***, Elizabete Brasil dos **SANTOS\*\*\*\***

\* Cirurgião Dentista

\*\* Professora do Departamento de Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG

\*\*\* Graduação em Química pela Universidade Estadual de Ponta Grossa

\*\*\*\* Professor Associado do Departamento de Odontologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG

### Endereço para Correspondência:

Profª Drª Elizabete Brasil dos Santos, Departamento de Odontologia.

Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Av General Carlos Cavalcanti 4748. Uvaranas. CEP: 84030-900.

email: bete.brasil@terra.com.br. Tel: (42) 32203104

### RELEVÂNCIA CLÍNICA

O uso de aparelho ortodôntico favorece a aderência de microrganismos bucais potencialmente patogênicos, pela dificuldade de higienização dos mesmos. O presente estudo fornece uma opção simples, barata e eficaz, o chá de folhas de romã, para o controle da formação de biofilme dental em usuários de aparelhos ortodônticos.

### RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação antimicrobiana e conseqüente inibição da aderência de microrganismos da saliva sobre ligaduras ortodônticas elásticas, do chá proveniente da infusão das folhas de *Punica granatum* (romã). Trinta ligaduras elásticas foram submersas em saliva e incubadas a 37°C/1h. A seguir, as ligaduras foram lavadas em solução fisiológica esterilizada e transferidas para tubos contendo 5 mL de solução fisiológica esterilizada. Antes deste passo, 10 ligaduras foram submersas em chá de *Punica granatum* por 5 minutos, 10 em clorexidina (controle positivo) e 10 não receberam nenhum tratamento (controle negativo). Após intensa homogeneização, alíquotas de 0,1 mL foram semeadas, em duplicata, em agar BHI. Após incubação a 37°C/24/48h, verificou-se o número de ufc/mL de microrganismos recuperados de cada ligadura. Com o uso do chá de romã, a média de ufc/mL recuperada foi de 9,166±4682,00, significativamente inferior ao controle negativo, com 20356,00±9367,80 ufc/mL (Teste Tukey, p<0,001), entretanto a ação da clorexidina (73,00±92,62 ufc/mL,) foi significativamente superior à do chá de romã (Teste Tukey, p<0,01). Os resultados sugerem a possível utilização do chá de folhas da romã como um meio alternativo ou adjuvante de controle químico do biofilme dental em usuários de aparelhos ortodônticos.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Punica granatum*, fitoterapia, ligaduras ortodônticas, romã

## SUMMARY

The aim of this study was to determine the antimicrobial effect and inhibition of microorganisms from saliva on orthodontic ligatures by *Punica granatum* (pomegranate) tea prepared with the leaves of pomegranate. Thirty ligatures were submerged into saliva and incubated at 37°C for 1 h. After this period, the ligatures had been washed in sterile saline solution and 10 was transferred to tubes containing 5 mL of saline (negative control); 10 was transferred to *Punica granatum* tea and 10 to chlorhexidine 0,12% (positive control) for 5 minutes before the transference to 5 mL of saline solution. After intense homogeneization, aliquots of 0,1 mL were plated, in duplicate, on BHI agar and incubated at 37°C/ 24/48 h. After incubation, the number of cfu/mL recovered from the ligatures was determined. Using *P. granatum* tea, the number of cfu/mL was 9,166±4682,00, which is statistically lower than negative control 20356,00±9367,80 ( $p<0,001$ ), while the effect of chlorhexidine (73,00±92,62 ufc/mL) was significantly higher comparing to pomegranate (Tukey test,  $p<0,01$ ) From this data it can be suggested that the tea of pomegranate leaves can be used as an alternative or additional method to control oral biofilm in dental tools users.

Key-words – *Punica granatum*, phytotherapy, orthodontic ligatures, pomegranate

## INTRODUÇÃO

O hábito popular de consumo de bebidas à base de plantas é muito antigo. Propriedades fitoterapêuticas são atribuídas às infusões de certas partes de plantas como caules, flores e folhas consumidas como chás<sup>1</sup>. Porém, a prescrição de fitoterápicos não chega a 5% do total de receitas do país<sup>2</sup>.

O mercado mundial de fitoterápicos movimenta anualmente 22 bilhões de dólares. A atuação brasileira neste mercado é menor do que a de países menos desenvolvidos tecnologicamente, mesmo sendo o Brasil detentor de um terço da flora do planeta<sup>3</sup>.

Teixeira et al<sup>4</sup>., verificando o conhecimento e o uso que os clientes apresentam sobre fitoterapia constatou que 60,4% dos sujeitos utilizavam ervas e 63,4% adquiriram o conhecimento sobre elas com a família. Os motivos que justificavam o uso das ervas foram sensação de melhora (32,2%) e caráter natural das ervas (33,5%).

Práticas naturais de saúde como a fitoterapia estão se tornando cada vez mais difundidas, principalmente devido aos altos custos e aos frequentes efeitos colaterais da medicina tradicional alopática<sup>5</sup>. Os fatos que impulsionam o crescimento da adoção de terapias alternativas são o alto preço dos medicamentos e da assistência privada à saúde, a precariedade nos serviços de saúde e a busca por um tratamento mais natural e sem efeitos adversos<sup>6,7</sup>.

É necessário esclarecer a população sobre a grande quantidade de substâncias existentes nas plantas e sobre os benefícios e prejuízos de tais substâncias à saúde, uma vez que popularmente as ervas são entendidas como meios livres de pro-

duto químicos e não geradoras de efeitos colaterais<sup>8</sup>.

O uso de aparelhos ortodônticos dificulta a higienização dos dentes e cavidade bucal, e fornece sítios extras para aderência microbiana, o que conseqüentemente favorece o acúmulo de biofilme. Nos aparelhos ortodônticos, as ligaduras elásticas são utilizadas para fixar os arcos ortodônticos aos braquetes. Estas apresentam algumas vantagens como propriedade de memória elástica, são de fácil colocação, são confortáveis para o paciente, possuem biocompatibilidade, são de fácil higienização e estão disponíveis em várias cores, contribuindo para a motivação do paciente com o tratamento ortodôntico<sup>9</sup>.

Deste modo, sabendo da importância da avaliação de meios alternativos e economicamente viáveis para o controle da placa bacteriana dentro de programas preventivos e curativos importantes à população, como também declarado por<sup>10</sup>. o objetivo deste estudo foi verificar in vitro a ação antimicrobiana do chá de infusão de folhas de romã (*Punica granatum*) sobre microrganismos da saliva.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada infusão durante 5 min com 1g da folha de *Punica granatum* (romã) em 50mL de água destilada esterilizada, previamente aquecida por 30 segundos na chama do bico de bunsen. Após, as folhas foram removidas e a infusão foi reservada para ser usada no experimento quando atingisse a temperatura ambiente.

Trinta ligaduras ortodônticas foram submersas em aproximadamente 1 mL de saliva total obtida do pesquisador responsável e levadas à estufa por 37°C/1h. A seguir, as ligaduras foram lavadas em solução fisiológica esterilizada e 10 ligaduras foram transferidas individualmente para tubos contendo 5mL de soro fisiológico (controle negativo), 10 foram submersas em chá de romã e 10 em clorexidina a 0,12% (controle positivo) por 5 minutos, sendo então transferidas para tubos com 5 mL de solução fisiológica. Após intensa homogeneização em aparelho vortex por 30 segundos, alíquotas de 0,1 mL da suspensão microbiana obtida foram semeadas em duplicata, em agar Brain Heart Infusion (BHI) e incubadas a 37°C/24 h, quando se determinou o número de ufc/mL de microrganismos recu-

perados de cada ligadura. Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística pelos testes ANOVA-One Way e Teste de Comparações Múltiplas de Tukey.

## RESULTADOS

Houve redução significativa no número de ufc/mL de microrganismos orais da superfície das ligaduras após o uso do chá de romã (tabela 1), estatisticamente significante em relação ao controle negativo.

Tabela 1 - Número de unidades formadoras de colônia recuperado das ligaduras ortodônticas após uso do chá de Punica granatum (romã)

**Tabela 1** - Número de unidades formadoras de colônia recuperado das ligaduras ortodônticas após uso do chá de Punica granatum (romã)

| Ligaduras    | Ufc/mL de microrganismos recuperados das ligaduras |                                    |                                       |
|--------------|--|------------------------------------|---------------------------------------|
|              | Romã/chá   | Clorexidina<br>(Controle positivo) | Sem tratamento<br>(Controle negativo) |
| 1            | 11040  | 5                                  | 27320                                 |
| 2            | 15680  | 0                                  | 11100                                 |
| 3            | 2940   | 0                                  | 24480                                 |
| 4            | 15680  | 130                                | 27320                                 |
| 5            | 13800  | 20                                 | 9880                                  |
| 6            | 7640   | 255                                | 27320                                 |
| 7            | 3400   | 155                                | 27320                                 |
| 8            | 6860   | 0                                  | 2080                                  |
| 9            | 7980   | 155                                | 27320                                 |
| 10           | 6640   | 10                                 | 19420                                 |
| <b>Média</b> | <b>9166,00*</b>                                    | <b>73,00**</b>                     | <b>2035, 00</b>                       |
| <b>D P</b>   | <b>4682,04</b>                                     | <b>92,62</b>                       | <b>9367,80</b>                        |

\* Diferença estatisticamente significante em relação ao controle negativo pelo teste de comparação múltipla de Tukey ( $p < 0,001$ ). \*\* Diferença estatisticamente significante em relação ao controle negativo e ao chá de romã pelo teste de comparação múltipla de Tukey ( $p < 0,001$ ).

## DISCUSSÃO

O mecanismo de deposição da placa bacteriana sobre a película adquirida tem sido motivo de muitas pesquisas<sup>10</sup>. A adesão bacteriana ao esmalte é muito complexa e ainda não perfeitamente entendida<sup>11</sup>. Existe uma concordância entre os autores de que a placa bacteriana desempenha papel importante no desencadeamento de problemas bucais<sup>12,13</sup>.

Estudos científicos relativos aos últimos 30 anos comprovam o fato de que a placa bacteriana é a principal responsável pela doença periodontal, assim como a doença cárie<sup>13</sup>. Conforme os dados

de Fine e Baumhammers<sup>14</sup>, 8,1% da matéria alba é eliminada da superfície dental após aplicação de jato de água intermitente e 67,6% durante a escovação.

A remoção mecânica da placa bacteriana exige motivação, cooperação e destreza manual<sup>15,16</sup>. Desta forma, torna-se importante o uso de inibidores químicos de placa nos colutórios, como agentes auxiliares das técnicas mecânicas<sup>17</sup>.

Segundo Scheie et al<sup>18</sup> o uso do aparelho ortodôntico é um desafio ao paciente que deseja manter uma boa higiene bucal e evitar descalcificações dentárias e doenças periodontais durante o tratamento.

É particularmente difícil manter uma higiene bucal aceitável quando bandas, fios e ligaduras estão presentes<sup>19</sup>. Arneberg et al<sup>20</sup> relataram aumentos significativos de *Streptococcus mutans* em pacientes sob tratamento com aparelhos fixos, até mesmo na primeira semana após a instalação do aparelho.

Bochechos repetidos com clorexidina podem reduzir em cerca de 80 a 90% o número de microrganismos aeróbios e anaeróbios da saliva<sup>21</sup>. Enquanto o uso prolongado reduz em aproximadamente 50% o número de microrganismo salivares<sup>22</sup>. No entanto, quando usada por um longo período, pode-se observar efeitos colaterais indesejáveis tais como manchamento de dentes, restaurações, língua e mucosa; descamação epitelial e alteração no paladar<sup>23</sup>. Também aumenta o acúmulo de cálculo<sup>24</sup>. Deve-se ressaltar que as manchas ocorrem na película adquirida, podendo ser removidas por profilaxia<sup>25</sup>. Neste estudo, a imersão em clorexidina por 5 minutos resultou na eliminação quase completa das bactérias aderidas às ligaduras, com média de 73,00 ufc/mL, em comparação com o controle, onde o número de ufc recuperado foi em média 2035.

O chá corresponde a uma forma de preparação das ervas, na qual utiliza-se a água para dissolver o princípio ativo<sup>8</sup>. Este trabalho verificou que o uso de chá de *Punica granatum* pode reduzir em aproximadamente 78% a contaminação microbiana inespecífica da cavidade bucal, no entanto, uma vez que a análise foi realizada "in vitro", não se pode afirmar que esta planta seja tão eficiente na inibição da placa supragengival quando utilizada "in vivo", havendo necessidade de experimentos clínicos. Entretanto quando os resultados são comparados aos obtidos com clorexidina, verifica-se que a diferença foi significativa entre os números de ufc/mL encontrados.

A romã, segundo Anesii et al<sup>26</sup> possui ação antimicrobiana específica sobre bactérias presentes na placa supragengival. Também os microrganismos *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* foram sensíveis ao efeito dessa planta.

Pereira et al<sup>10</sup> concluíram que o extrato de romã apresenta atividade antimicrobiana in vitro sobre *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sanguis*, bactérias predominantes na flora salivar humana. Os resultados obtidos neste estudo corroboram a ação antimicrobiana da romã sobre *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sanguis* como observado por Pereira et al<sup>10</sup>. Também sugere ação sobre a placa bacteriana, indo ao encontro do trabalho de Anesini et al<sup>26</sup> que identificou ação antimicrobiana

específica da romã sobre bactérias presentes na placa supragengival.

O uso de aparelho ortodôntico fornece sítios extras de aderência microbiana, o que, junto com a dificuldade de manutenção da higiene, pode favorecer o desenvolvimento de doenças oportunistas na cavidade bucal. Souza e Vasconcelos et al<sup>27</sup> usaram gel contendo extrato de *Punica granatum* (romã) como agente antifúngico em candidose associada em estomatites dento-orais em 30 pacientes e verificou que ocorreu uma resposta satisfatória e regular em 21 deles.

Ligaduras são pequenos acessórios ortodônticos usados para fixar os arcos ortodônticos aos braquetes. Segundo Martins e Martins et al<sup>9</sup> as ligaduras elásticas apresentam várias vantagens entre elas a fácil higienização. Entretanto, a demonstração, como a realizada neste estudo, de que ocorre aderência de um número significativamente alto de microrganismos da saliva em superfícies relativamente pequenas de ligaduras elásticas, demonstra claramente a importância de métodos adicionais de auxílio à higiene em portadores de aparelhos dentais, como a ação antimicrobiana do chá de romã demonstrada neste trabalho. A fitoterapia pode ser uma opção simples, barata e eficaz para este fim.

## CONCLUSÃO

O chá da infusão das folhas de *Punica granatum* (romã) apresentou ação antimicrobiana frente a microrganismos da saliva e reduziu a aderência destes às ligaduras elásticas ortodônticas.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica para realização deste estudo.

## REFERÊNCIAS

1. Heiser Jr, C.B. Sementes para a civilização: a história da alimentação humana. 1 ed. Editora da Universidade de São Paulo, 1977, 253p.
2. Ferreira, B. Fitoterapia: Plante essa idéia. Rev. ABO Nacional, 1996; 4, 2-5.
3. Yunes, RA, Pedrosa, RC, Cechinel Filho, V. Fármacos e Fitoterápicos: A necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. Quim. Nova. 2001; 24(1), 147-152.

4. Teixeira, ER, Nogueira, JF. O uso popular das ervas terapêuticas no cuidado com o corpo. Revista Gaúcha de Enfermagem. 2005; 26(2): 231-239.
5. Alvin, NA. Enfermagem e as práticas naturais de saúde: um estudo de representações docentes. Rio de Janeiro: Graflina, 1997. p.190
6. Gomes, DLS. A fitoterapia e a homeopatia como práticas médicas alternativas. Revista Brasileira de Enfermagem, Brasília (DF). 1985; 38: 329-348.
7. Santos, EF. . As plantas medicinais segundo o nível de conhecimento da equipe de saúde de uma unidade de assistência primária (monografia de Habilitação em Saúde Pública). Rio de Janeiro: Faculdade de Enfermagem, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 1984,
- 8 Bragança, LAR. Plantas medicinais antidiabéticas: uma abordagem multidisciplinar EDUFF: Niterói (RJ). 1996.
- 9- Martins e Martins, M, Mendes, AM, Almeida, MAO, Goldner, MTA, Ramos, VF, Guimarães, SS. Estudo comparativo entre as diferentes cores de ligaduras elásticas R Dental Press Ortodon Ortop Facia. 2006; 11(4): 81-90.
10. Pereira, JV, Silva, SC, Santos Filho, L, Higino, JS. Atividade antimicrobiana do Extrato Hidroalcoólico da *Punica granatum Linn.* sobre microrganismos formadores de placa bacteriana. Revista Periodontia. 2001; 12(4): 57-63.
11. Quirynen, M, Marechal, M, Busscher, H, el-Abiad, M, Arends, J, Van Steenberghe, D. The influence of surface characteristics on the early bacterial colonization of intra-oral hard surfaces. J. Clin. Dent. 1988; 1:14-19.
12. De Micheli, G, Sarian, R. Placa bacteriana: controle químico; estudo clínico em humanos da eficiência de dois produtos, comparados com um placebo, quando utilizados na forma de bochechos imediatamente antes da higiene bucal (pré-escovação). Revista APCD. 1990; 44(6): 333-336.
13. Ekstrand, KR, Bruun, G, Bruun, M. Plaque and gingival status as indicator for caries progression and approximal surfaces. Caries Res. 1998; 32: 41-45.
14. Fine, DH, Baumhammers, A. Effect of water pressure irrigation on stainable material on teeth. Journal Periodontol.. 1970; 41:468-472.
- 15- Devore, LR. Antimicrobial mouthrinses: impact on dental hygiene. JADA. 1994; 125: 23-28.
16. Stefani, CM, Lima, AF. M. Avaliação dos efeitos clínicos da aplicação de gel de clorexidina em pacientes sob tratamento ortodôntico. Rev. Periodontia. 1996; 5(3): 300-305.
17. Carranza Junior, FA. Glickman's Clinical Periodontology: in controle de placa. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992, p. 509-527.
18. Scheie, AA., Arneberg, P, Krogstad, O. Effect of orthodontic treatment on prevalence of *Streptococcus mutans* in plaque and in saliva. Scand. J. Dent. Res. 1984; 92: 211-217.
19. Lundstron, F, Hamps, PSE. Effect of oral hygiene education on children with and without subsequent orthodontic treatment. Scand. Journal Dent. Res. 1980; 88: 53-59.
20. Arnenberg, P, Ogaard, b, Scheie, AA, Rolla, G. Selection of *Streptococcus mutans* and *lactobacilli* in an intra oral human caries model. J. Dent. Res. 1984; 45: 135-140.

21. Schiott, CR, Loe, H, Jensen, SB, Kilian, M, Davies, RM, Glavind, K The effect of chlorhexidine mouthrinses on the human oral flora. *J. Periodont. Res.*1970; 5:84-89.
22. Schiott, CR. The effect of chlorhexidine in the microflora of the oral cavity. *J. Periodont. Res.* 1973; (8):7-10.
23. Mandel, ID. Antimicrobial mouthrinses: Overview and update. *JADA.* 1994; 125:2-10.
24. Anderson, GB, Bowden, J, Morrisson, EC, Caffesse, RG. Clinical effects of chlorhexidine mouthwashes on patients undergoing orthodontic treatment. *Am. J. Orthod. Dentof. Orthop.* 1997; 111(6): 606-612.
25. Cury, J A. Controle químico da placa dental. In: Kriger, L. *ABOPREV: promoção de saúde bucal.* São Paulo: Artes Médicas, 1997.p. 129-140.
26. Anesini, C, Perez, C. Screening of plants used in Argentine Folk Medicine for antimicrobial activity. *J. Ethnophar.* 1993; 39: 119-128. .
27. Souza Vasconcelos, LC, Correia Sampaio, M. C. Correia Sampaio, F, Higino, JS. Use of *Punica granatum* as an antifungal agent against candidosis associated with denture stomatitis. *Mycoses.*2003; 46(5-6):192–196.