UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

JOSÉ ÍTALO BALBINO DE FREITAS
VITÓRIA RODRIGUES PEREIRA LEITE

PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DO PÓ DE JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart.) SOBRE O CONTROLE DO BIOFILME E DA CÁRIE DENTÁRIA

JUAZEIRO DO NORTE-CE
2023

JOSÉ ÍTALO BALBINO DE FREITAS
VITÓRIA RODRIGUES PEREIRA LEITE

PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DO PÓ DE JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart.) SOBRE O CONTROLE DO BIOFILME E DA CÁRIE DENTÁRIA

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Odontologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, como pré-requisito para obtenção do grau de Bacharel.

Orientador(a): Prof. Me. José Walber Gonçalves Castro
Coorientador(a): Profa. Dra. Thayla Hellen Nunes Gouveia da Costa

JUAZEIRO DO NORTE-CE
2023

JOSÉ ÍTALO BALBINO DE FREITAS / VITÓRIA RODRIGUES PEREIRA LEITE

PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DO PÓ DE JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart.) SOBRE O CONTROLE DO BIOFILME E DA CÁRIE DENTÁRIA

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Odontologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, como pré-requisito para obtenção do grau de Bacharel.

Aprovado em 03/07/2023.

BANCA EXAMINADORA

PROFESSOR (A) MESTRE JOSÉ WALBER GONÇALVES CASTRO

ORIENTADOR (A)

PROFESSOR (A) DOUTOR (A) RENATA EVARISTO RODRIGUES DA SILVA

MEMBRO EFETIVO

PROFESSOR (A) DOUTOR (A) TERENTIA BATISTA DE SÁ NORÕES

MEMBRO EFETIVO

PERFIL FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DO PÓ DE JUÁ (*Ziziphus joazeiro* Mart.) SOBRE O CONTROLE DO BIOFILME E DA CÁRIE DENTÁRIA

José Italo Balbino de Freitas[1]
Vitória Rodrigues Pereira Leite[2]
José Walber Gonçalves Castro[3]

RESUMO

Ziziphus joazeiro Mart. juá, pé de juá, como é conhecido popularmente, é uma planta endêmica da caatinga explorada pelo homem sendo notório o valor terapêutico nas práticas medicinais. É extraído a partir da casca da árvore e substituído pelo creme dental convencional, na escovação. O uso de plantas medicinais como forma terapêutica é manifestado desde os primórdios em diferentes classes sociais, culturas e diferentes povos. O presente estudo tem como objetivo avaliar o perfil químico e eficácia antimicrobiana do pó de *Ziziphus joazeiro* Mart. sobre o controle do biofilme e *Streptococcus mutans*. Foi realizado a preparação do extrato aquoso, a prospecção fitoquímica, atividade antimicrobiana, atividade moduladora, formação de biofilme bacteriano e avaliação quantitativa de células bacterianas viáveis nos biofilmes. A análise estatística foi realizada através do ANOVA bidirecional, utilizando o software *GranphPad Prism* 7.0. Obteve resultado significativo frente a bactéria gram-positiva testada, *Streptococcus mutans* com CIM 8 μg/mL. Foi descrito um perfil com a presença de: fenóis, taninos, antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavanóis, xantonas, chaconas, auronas, leucoantocianidinas, catequinas, flavononas, alcaloides e saponinas. Em relação a modulação, apenas os antibióticos cefalotina, gentamicina e amicacina apresentaram sinergismo, o que não foi visto no antibiótico benzilpenicilina. Em relação ao biofilme microbiano, o extrato aquoso não apresentou diminuição significativa. Dessa forma são necessários estudos futuros e com outras maneiras que possibilitem o uso isolado e a caracterização estrutural química desse extrato revelando maior quantidade de compostos químicos.

Palavras-chave: Antimicrobiano. Biofilme. Cárie. *Streptococcus mutans*. *Ziziphus joazeiro*.

ABSTRACT

Ziziphus joazeiro Mart. . juá, pé de juá, as itis popularly known, is an endemic plant of the caatinga exploited by man, with a notorious therapeutic value in medicinal practices. It is extracted from the bark of the tree and replaced by conventional toothpaste when brushing. The use of medicinal plants as a therapeutic form has been manifested since the beginning in different social classes, cultures and different peoples. The present study aims to evaluate the chemical profile and antimicrobial efficacy of *Ziziphus joazeiro* Mart. powder. on the control of biofilm and *Streptococcus mutans.* The preparation of the aqueous extract, the phytochemical prospection, antimicrobial activity, modulating activity, bacterial biofilm formation and quantitative evaluation of viable bacterial cells in the biofilms were carried out. Statistical analysis was performed using bidirectional ANOVA, using the *GranphPad Prism* 7.0 software.

[1] Graduando do curso de Odontologia do Centro Universitário Dr. Leão Sampaio – joseitalobalbino@gmail.com
[2] Graduando do curso de Odontologia do Centro Universitário Dr. Leão Sampaio – vitorialeite.vrp@gmail.com
[3] Docente do curso de Odontologia do Centro Universitário Dr. Leão Sampaio

It obtained a significant result against the gram-positive bacteria tested, Streptococcus mutans with MIC 8 μg/mL. A profile was described with the presence of: phenols, tannins, anthocyanins, anthocyanidins, flavones, flavanols, xanthones, chacones, aurones, leucoanthocyanidins, catechins, flavonones, alkaloids and saponins. Regarding modulation, only the antibiotics cephalothin, gentamicin and amikacin showed synergism, which was not seen in the antibiotic benzylpenicillin. Regarding the microbial biofilm, the aqueous extract did not show a significant decrease. In this way, future studies are necessary and with other ways that allow the isolated use and the chemical structural characterization of this extract, revealing a greater amount of chemical compounds.

Keyword: Antimicrobial. Biofilm. Caries. *Streptococcus mutans. Ziziphus joazeiro.*

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais como produtos fitoterápicos é relatado desde os primórdios em diferentes classes sociais, culturas e povos. Os estudos farmacogenâmicos relacionados as atividades farmacológicas das plantas é fomentado pelo costume corriqueiro da utilização de plantas fitoterápicas para a melhora de diversas condições e higiene (MEDEIROS et al., 2019).

Entretanto o acesso a medicamentos e redes de atenção a saúde em determinadas regiões ainda são escassos, principalmente para pessoas em situação de vulnerabilidade social e sem acesso a informações, sendo assim o método fitoterápico torna-se um dos meios ou o único para resoluções dos problemas que acometem esses indivíduos (ROCHA, 2021).

É importante salientar que o uso das plantas medicinais está cada vez mais em ascensão. Visto que o seu consumo no Brasil e a implantação de programas relacionados a atenção primária de saúde facilitam e melhoram o acesso bem como a proteção da população sob o uso de ervas curandeiras. Essas plantas suprem a necessidade de fármacos e atuam principalmente na população menos privilegiadas (AUGUSCO et al., 2022).

Em contrapartida ainda há um déficit e uma ausência em pesquisas relacionadas a farmacognosia, deixando desamparado essa população, já que utilizam dessas plantas de forma negligênciada sem o correto amparo de que são eficazes e seguras. A farmacognosia é o estudo associado aos fármacos de origem vegetal, analisando suas particularidades químicas, biológicas, botânicas e bioquímicas (SIMOES et al., 2010).

Ziziphus joazeiro Mart. Juazeiro, Juá, juá-espinho, juá-fruta, laranjeira-de-vaqueiro, enjuá, juá-mirim, juá-de-boi, juá-bravo, loquiá, como é conhecida popularmente é uma planta endêmica da caatinga explorada pelo homem sendo notório o seu valor terapêutico que possui várias práticas medicinais, sendo uma delas utilizada para higiene dental. É extraído a partir da casca da árvore e substituído pelo creme dental convencional e que age de forma segura e eficaz

na redução do biofilme. O pó de juá é constituído por saponinas no qual tem um alto poder detersivo e espumante, apesar de ter sabor amargo uma das suas características é o baixo poder abrasivo. Apresenta uma elevada atividade antimicrobiana agindo principalmente sobre *Streptococcus mutans,* bactéria causadora da cárie dentária e age também sobre *Staphylococcus epidemidis* e *Staphylococcus aureus* (SANTOS et al., 2021).

A cárie dentária é um dos problemas bucais de saúde mais prevalente na sociedade, sendo importante o estudo de novos métodos terapêuticos para o seu controle. A cavidade oral é colonizada por microrganismos, principalmente pelo *Streptococcus mutans* que são capazes de produzir enzimas que permitem a outros microrganismos de se aderir a superfícies dos dentes formando o biofilme. Desse modo por mais que a cárie seja multifatorial, o fator etiológico mais predominante é o biofilme e a falta de higiene oral, portanto a comercialização de produtos de alto custo se torna difícil o acesso para todos, devido a isso o uso de fitoterápicos, como o pó de *Ziziphus joazeiro* Mart. é amplamente utilizado, porém o seu uso é baseado em uso empírico (GOMES, 2022).

Nessas circunstâncias a efetividade de produtos à base naturais com intuito terapêutico representa uma alternativa contra a existência de uma atividade de resistência antimicrobiana. Devido a ampla utilização desse tipo de planta, diversos estudos são realizados para a comprovação científica das suas propriedades e ações, podendo incluir ação anti-inflamatória, analgésica, antibacteriana, febrífuga e cicatrizante, apresentando-se também os fenóis, taninos, alcaloides, triterpenos, quinonas, entre outros (PINHEIRO, 2019).

O pó do *Ziziphus joazeiro* Mart. é amplamente utilizado como método de escovação, principalmente por pessoas em situação de vulnerabilidade social. O seu uso é corriqueiramente observado na sociedade apenas pelos seus conhecimentos empíricos que são passados de geração em geração, mas sem comprovação científica. O presente estudo tem o objetivo de avaliar o perfil químico e eficácia antimicrobiana do pó de *Ziziphus joazeiro* Mart. sobre o controle do biofilme e *Streptococcus mutans*.

2 METODOLOGIA

2.1 PREPARAÇÃO DO EXTRATO

A casca do *Ziziphus joazeiro* Mart. foi selecionada, seca a temperatura ambiente e em seguida triturada para aumentar a superfície de contato, submersa em água por um período de 72 horas, de acordo com Simões et al. (2010). A mistura foi submetida a filtração para retirada

das impurezas, e o material foi liofilizado pelo processo de criosecagem *(freeze-drying)* processo de desidratação de produtos em condições de pressão e temperatura tais que a água, previamente congelada, passa do estado sólido, diretamente para o estado gasoso, pelo princípio de sublimação. O rendimento do extrato foi de 1000ml quando pesado 500g do liofilizado.

2.2 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA

A prospecção fitoquímica foi realizada de acordo com a metodologia de Matos (2009) e Simões et al. (2010) com o intuito de elucidar as classes de metabólitos secundários como flavonóides, alcalóides, taninos, dentre outros. Esse ensaio baseia-se na observação visual, intensificação da cor ou formação de precipitado após adição de reagentes específicos nas soluções das amostras.

2.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana foi avaliada através do método de microdiluição com base no *Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI* (2012). Utilizando a bactéria padrão *Streptococcus mutans*. A bactéria foi ativada em meio *Brain Heart Infusion Broth* (BHI 3,8 %) e mantidas na estufa por 24 horas. Após o primeiro cultivo o inóculo foi padronizado a partir da concentração de aproximadamente de 1 x 10^8 Unidade Formadora de Colônia - UFC/mL (turbidez da escala de McFarland). Em seguida, esta suspensão foi diluída em caldo BHI a 10% e volumes de 100μL foram adicionados e homogeneizados nos poços de uma placa de microdiluição acrescentado na concentração de 1024μg/ mL do produto vegetal. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Os experimentos foram realizados em triplicata. A atividade antibacteriana foi detectada através do método colorimétrico utilizando 25 μL de resazurina sódica (0,01%) após o período de incubação. Esse método consiste na mudança de coloração nos poços após a adição da resazurina, em azul e rosa, na qual a cor azul demostra a inibição do crescimento bacteriano e a cor rosa a presença de atividade bacteriana. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento bacteriano (COUTINHO et al., 2008; SALVAT et al., 2001).

2.4 ATIVIDADE MODULADORA

O teste de modulação foi realizado na presença e na ausência do composto natural através de microdiluição em triplicata. Para avaliar a atividade moduladora utiliza-se a CIM, do extrato aquoso frente aos antibióticos da classe aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina), beta-lactâmicos (cefalotina e benzilpenicilina). A quantidade de extrato aquoso foi calculada pela concentração sub inibitória (CIM/8). Os inóculos bacterianos em BHI a 10 % foram distribuídos na microplaca seguido da microdiluição de 100 uL das soluções de antibióticos (1024 μg/ mL). Houve a realização das seguidas diluições obtendo as concentrações do antibiótico que variaram de 512 a 0,5 μg/ mL.

O teste foi monitorado com um controle positivo contendo apenas os antibióticos e os microrganismos. As placas microdiluidas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e a leitura foi realizada com o auxilio da resazurina sódica como descrito anteriormente (COUTINHO et al., 2008; SALVAT et al., 2001).

2.5 FORMAÇÃO DO BIOFILME BACTERIANO

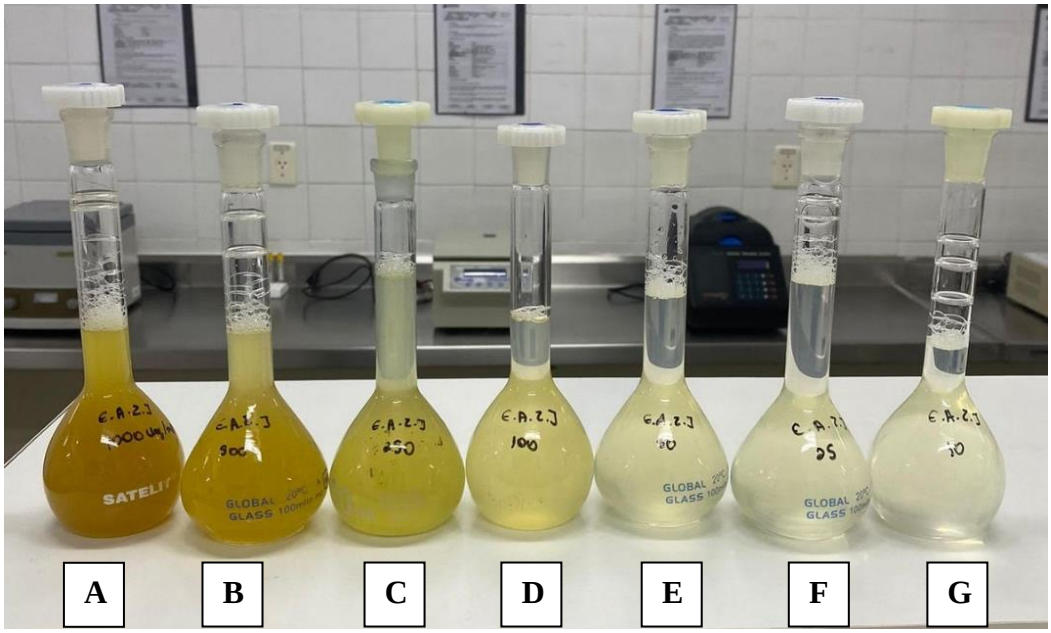
Para provocar a formação do biofilme bacteriano a bactéria foi incubada em BHI a 3,8% e colocado em frascos coletores estéreis por um período de 24h. Passado 24h foram introduzidas dentro do meio corpos de provas (dentes bovinos) para a formação do biofilme. Estes corpos de prova foram avaliados em um período de 24h para verificar a turvação do meio e o crescimento das bactérias fixas a este órgão (AGNELLI, 2011). A utilização dos corpos de prova foi autorizada pelo Comitê de Ética de uso animal da Unileão pelo protocolo número 047 analisado no dia 10 de março de 2023 (Anexo A).

2.6 AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DE CÉLULAS BACTERIANAS VIÁVEIS DOS BIOFILMES

Após os tempos de incubação designados para a formação e desenvolvimento do biofilme, 1 dia, 4 dias e 7 dias, foram realizados os procedimentos de lavagem dos corpos de prova, desagregação do biofilme e sua avaliação quantitativa (ou contagem de UFC, ou, ainda, contagem de células viáveis). Para cada tempo sendo realizados os mesmos procedimentos. Sendo semeado em *Plate Count Agar* - P.C.A para contagem de colônias. Submetidos a

tratamento com as concentrações do extrato aquoso como mostra a imagem 1 (AGNELLI, 2011).

Imagem 1: Concentrações do extrato do *Zizuphus Joazeiro* Mart.



Legenda: A: EEAZ 1000 µg/ mL; **B:** EEAZ 500 µg/ mL; **C:** EEAZ 250 µg/ mL; **D:** EEAZ 100 µg/ mL; **E:** EEAZ 50 µg/ mL **F:** EEAZ 25 µg/ mL; **G:** EEAZ 10 µg/ mL.

Fonte: Própria do autor

Após a incubação em novo semeio de P.C.A foi realizado para a contagem de UFC/mL das placas nas devidas concentrações, 1000, 500, 250, 100, 50, 25, 10 µg/ mL.. Em cada placa foi submetido concentrações diferentes do extrato contendo o corpo de prova, foi realizado uma alçada e após 24 horas um novo semeio em esteira para contagem das placas a olho nu.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram tabulados no *Excel Microsoft Office Professional Plus 2016*. Os testes microbiológicos foram analisados pelo ANOVA bidirecional seguida pelo teste de *Bonferroni* utilizando software *GranphPad Prism* 7.0. Os resultados em $p < 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ziziphus joazeiro Mart. é uma planta existente na caatinga e no semiárido, bioma exclusivamente brasileiro, e principalmente encontrada no Nordeste como afirma Barratto et al. (2018).

A Rnamnacea é a família de plantas formada por cerca de 900 espécies em todo o mundo, mas somente 23 espécies estão presentes na américa do sul. A espécie *Ziziphus joazeiro* compreende cerca de 30 gêneros, mas 9 dos 30 se encontram no Brasil. O *Ziziphus joazeiro* Mart. é uma árvore dessa espécie, na qual suas folhas, frutos, raízes, caule, casca, são amplamente utilizados para o tratamento de infecções desencadeadas por bactérias, dor, doenças da cavidade oral, como gengivite, doenças respiratórias, e entre outras como menciona Dutra et al. (2022).

Vale et al. (2022) explica que o *Ziziphus joazeiro* Mart. por ser uma planta perenifólia, heliófita, autotrófica e apresentar raízes pivotantes, permanece verde por longas fases mesmo em períodos de escassez de chuva, pois suas raízes possibilitam a obtenção de água do subsolo.

Sua casca interna é de coloração amarelada. Apresenta um pequeno exsudato, com sabor amargo e sem odor predominante, e é aquoso. Na sua casca externa apresenta cor cinza-escuro e pode se desprender em pequenos fragmentos, deixando marcas superficiais na casca interna sendo elucidado pelos testes de Mauro et al. (2021).

A prospecção fitoquímica é uma área de pesquisa que envolve a identificação e o estudo dos compostos químicos presentes em plantas (fitoquímicos) com propriedades biológicas e terapêuticas potenciais. Esse processo visa descobrir e caracterizar compostos naturais presentes nas plantas, que podem apresentar atividades farmacológicas relevantes, com o objetivo de descobrir novos compostos bioativos com potencial terapêutico como afirma os estudos de Matos (2009).

Após a realização do teste os seguintes resultados foram observados:

Tabela 1: Resultado da prospecção fitoquimica do Extrato Aquoso do pó da casca do *Zizuphus Joazeiro* Mart. (EAZJ).

	1 Fenóis	2 Taninos	3 Antocianinas	4 Antocianidinas	5 Flavonas	6 Flavanóis	7 Xantonas	8 Chacona	9 Auronas	10 Flavonóis	11 Leocoantocianidinas	12 Catequinas	13 Flavononas	14 Alcaloides	15 Saponinas
EAZJ	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+

Legenda: 1: Fenóis; 2: Taninos; 3: Antocianinas; 4: Antocianidinas; 5: Flavonas; 6: Flavanóis; 7: Xantonas; 8: Chaconas; 9: Auronas; 10: Flavonóis; 11: Leocoantocianidinas; 12: Catequinas; 13: Flavononas; 14: Alcaloides; 15: Saponinas. **(+) presente (-) ausente**

Fonte: Própria do autor.

Segundo Oliveira (2019) o *Ziziphus joazeiro* Mart. quando utilizado para fins terapêuticos e fitoterápicos. As partes da planta mais predominante utilizadas são cascas, caule e folhas, desde *in nature*, lambedor, decocção, maceração, banhos, pó como dentifrícios e outras assim como nesse estudo foi utilizado o extrato aquoso.

As propriedades químicas mais encontradas foram saponinas, taninos, polifenóis e flavonoides e seiva oninas, assim como as encontradas nesses estudo. A partir da formação da espuma persistente é relatada em diversos estudos com plantas da espécie, o que justifica o seu uso em produtos para higiene, pois apresenta propriedades detergentes por isso a formação de espuma na formulação aquosa ou em pó segundo os estudos de Dutra et al. (2022).

Pinheiro (2019) consolida que as formulações comprovam que *Ziziphus joazeiro* Mart. age na diminuição da placa dentária e possui uma ação antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans*, bactéria cariogênica da microbiota oral, e doença periodontal: como *Prevotella intermédia*, *Porphyromonas gingivalis*. Em ensaios fitoquímicos a composição química da entrecasca de *Ziziphus joazeiro* Mart. apresenta ácido betulínico, ácido oleanólico, saponinas, esteróide e triterpenos.

Streptococcus mutans é a principal bactéria causadora da cárie dentária, apresentando uma grande diversidade genotípica, tem a capacidade de metabolizar os carboidratos, colonizar o elemento dental e devido aos seus fatores de patogenicidade, *Streptococcus mutans* (*S.*

mutans) é considerado o microrganismo colonizador da cavidade bucal humana de maior cariogenicidade, produzindo ácidos e polímeros extracelulares como afirma Lin et al. (2022). A concentração inibitória mínima (CIM) encontrada foi 8 μg/ mL e foi determinada como a menor concentração do extrato que inibiu o crescimento bacteriano.

Cota et al. (2019) menciona que esta bactéria produz glicosiltransferases, que sintetizam polímeros de glicano solúveis e insolúveis a partir da sacarose, que aumentam a colonização de bactérias cariogênicas e promovem a formação de biofilme dental na superfície dos dentes. O estudo sobre os aspectos genotípicos que constituem o grupo heterogêneo do *S. mutans* evidenciam que indivíduos podem ser colonizados por mais de um tipo genético dessa bactéria, para a realização desses estudos são realizados diferentes métodos de tipagem molecular sendo uma deles a técnica de DNA polimórfico amplificado.

Algumas plantas com ação antimicrobiana podem ser inseridas nos dentifrícios para diminuição do biofilme, prevenindo a cárie. Diversos produtos naturais, como óleo de copaíba, aroeira, malva do reino, entre outros, mostraram-se efetivos frente à diminuição do biofilme. Alguns componentes como os taninos e flavanoides, presentes em substâncias naturais auxiliam também na prevenção de doenças sistêmicas causadas por reações de oxidação como demonstra os achados de Lopes; Soares (2022).

A ação antimicrobiana do extrato pode estar relacionada à presença de compostos fenólicos e flavonoides, por serem conhecidos por sua atividade antioxidante e antimicrobiana. A presença de vários compostos fenólicos e flavonóides nas cascas de juazeiro foram encontratos. Esses compostos são capazes de inibir o crescimento bacteriano, bem como a formação de biofilme como elucida Mesquita et al. (2017).

Alviano et al. (2008) afirma que *Ziziphus joazeiro* Mart., apresenta atividade contra bactérias da microbiota oral, associadas a doenças periodontais, *Prevotella intermédia, Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium nucleatum, Streptococcus mutans e Lactobacillus casei*, que são bactérias cariogênicas, dentre essas está descrita a do presente estudo.

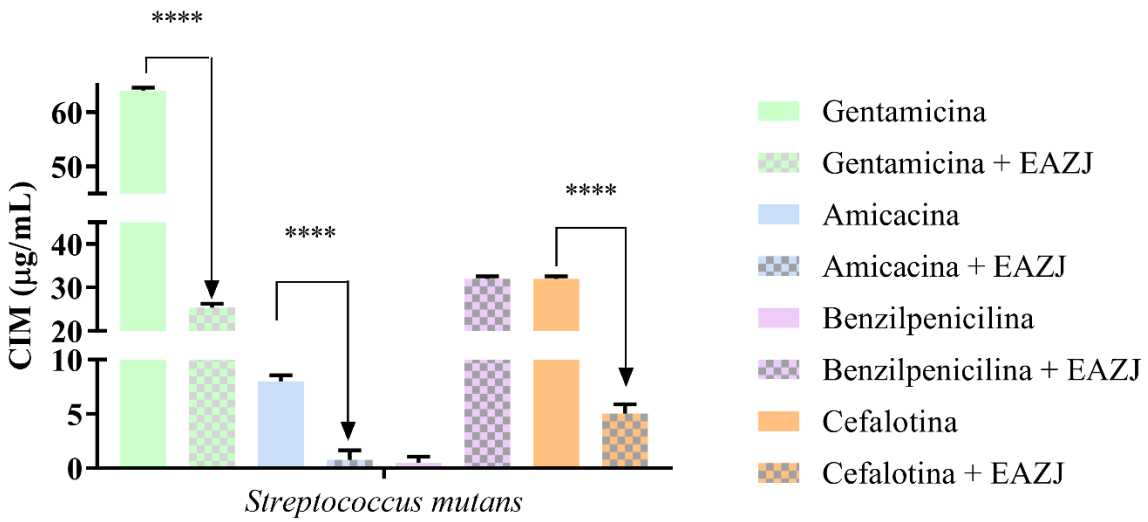
A atividade antimicrobiana ocorre pela presença dos flavonóides que apresentam atividades importantes e diversificadas. Essa ação ocorre devido à sua habilidade de formar complexos com proteínas solúveis extracelulares e com a parede celular de algumas bactérias, e ainda ao caráter lipofílico por ser responsável pela ruptura da membrana celular dos microorganismos justificando a CIM 8 μg/ mL como explica Machado (2009).

O extrato apresenta também atividade anti-inflamatória, e que pode ser usado no tratamento de doenças inflamatórias da cavidade oral, como gengivite e periodontite sendo

afirmado por Silva et al. (2011). Essa ação anti-inflamatória pode ser explicada por Tajra et al. (2020) que estabelece que o *Ziziphus joazeiro* Mart. devido a sua composição química apresenta principalmente ação: adstringente, antigripal, cicatrizantes, expectorantes, febrífuga, tratamento de caspa, má digestão e ainda atua com ação antibacteriana, por apresentar em sua composição ácido betulico, amido, cafeína, óxido de cálcio, sais minerais, saponina entre outros que justifica essa ação.

O teste de modulação foi realizado na presença e na ausência do composto natural através de microdiluição em triplicata. Para avaliar a atividade moduladora foi utilizado a CIM, do extrato etanólico frente aos antibióticos. O gráfico 1 apresenta essa atividade.

Gráfico 1: Atividade Moduladora do Extrato Aquoso do pó da casca do *Zizuphus Joazeiro* Mart (EAZJ).



Fonte: ANOVA bidirecional seguida pelo pós teste e *Bonferroni*, usando um software *GraphPad Prism 7.0.* **** p<0,0001

Em relação aos antibióticos testados, observou-se atividade moduladora da Gentamicina (G), Amicacina (A), Benzilpenicilina (B), Cefalotina (C). Na qual houve a redução da CIM para G (64ug/ml), A (8ug/ml) e C (34ug/ml) demonstrando sinergismo. No caso da Benzilpenicilina houve um antagonismo como verificado no gráfico 1.

Os aminoglicosídeos são antibióticos constituídos de açúcares aminados unidos a um anel aminociclitol através de ligações glicosídicas, atuando nos ribossomos bacterianos. Apresenta um amplo espectro de ação, com grande atividade sobre bactérias aeróbias de gram-

negativo, sendo pouco ativos contra bactérias aeróbias gram-positivo, não apresentando, no entanto, atividade sobre bactérias anaeróbias estritas sendo afirmado por Ribeiro (2017).

A gentamicina e a amicacina são pertencentes a essa classe, apresentam uma CIM elevada, quando associada ao EAZJ demostraram um efeito potencializador. Essa diminuição pode ser explicada pela presença de alguns compostos fitoquímicos taninos e flavanóides, que apresentam características antimicrobianas, assim justicando o sinergismo, segundo Desoti (2011). O grupo químico dos flavonóides tem atividade antibiótica que provavelmente está relacionada à capacidade desse grupo de se complexar com proteínas solúveis e extracelulares e com a parede de células bacterianas.

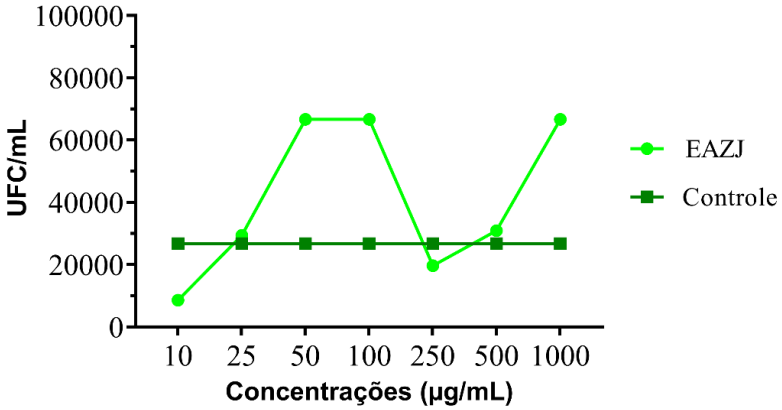
Já a cefalotina pertencente a classe das cefalosporinas, possui ação bactericida e atua através da inibição da síntese da parede celular. Nesse estudo o antibiótico citado demonstrou sinergismo, podendo ser explicado pelos artigos de Guimarães et al. (2010) descrevem que os compostos químicos presentes no EAZJ, podem aumentar a absorção de antibióticos pelo aumento da permeabilidade da membrana celular e pela interferência no funcionamento das enzimas bacterianas.

O antibiótico benzilpenicilina apresentou antagonismo frente à *Streptococcus mutans*, contrariando o demonstrado anteriormente quando o antibiótico testado isoladamente, como elucida o gráfico 1. Esse antagonismo é explicado por Pinheiro (2019) que ao analisar a modificação negativa da ação antibiótica pelo extrato de *Ziziphus*, verificou que a diminuição da ação antibiótica da Benzilpenicilina pode ser explicada pela presença de compostos com potencial antioxidante, uma vez que esses compostos inibem a síntese da parede celular bacteriana, intensificando assim a resistência bacteriana ao antibiótico testado.

O biofilme é uma comunidade complexa e estruturada de microrganismos, envoltos por uma matriz extracelular de polissacarídeos, aderidos entre si a uma superfície ou interface dentária que estejam presentes na cavidade oral. Estas estruturas, uma vez constituídas, agem como ponto de contaminação constante, liberando células de microrganismos patogênicos e deteriorantes, podendo comprometer, assim, a qualidade microbiológica sendo relatado por Oliveira et al. (2018).

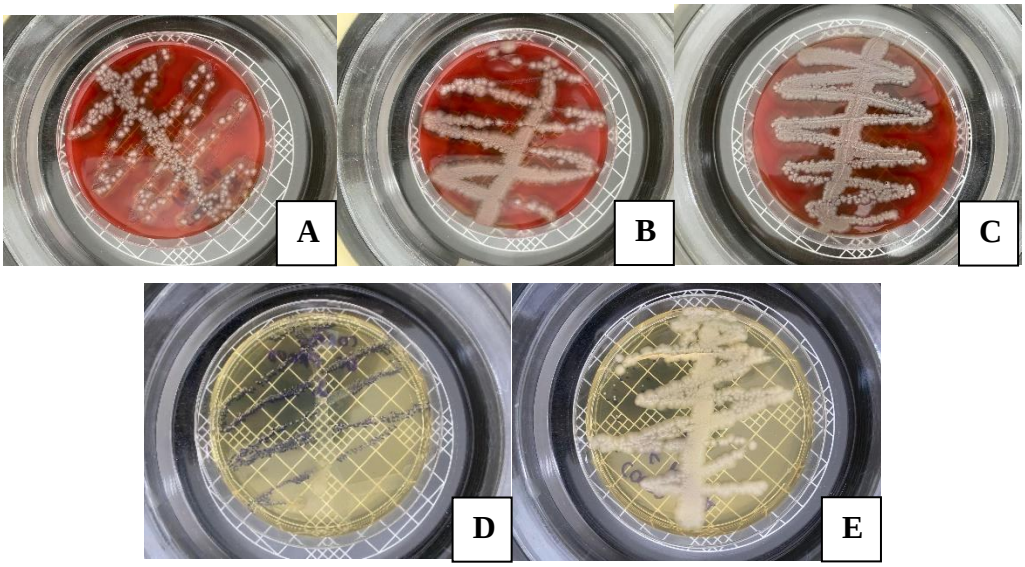
Na erradicação do biofilme *Streptococcus mutans*, as concentrações dos extratos apresentaram pouca ou nenhuma característica de inibição do crescimento de biofilme frente a do controle de crescimento em todas as concentrações utilizadas. O gráfico 2 e a imagem 2 relatam os resultados sobre a avaliação quantitativa das células bacterianas viáveis do biofilme.

Gráfico 2: Avaliação quantitativa de células bacterianas viáveis do biofilme.



Legenda: ANOVA bidirecional seguida pelo pós teste e Bonferroni, usando um software GraphPad Prism 7.0.
Fonte: Própria do autor

Imagem 2: Demonstração de UFC dos corpos de prova da avaliação quantitativa de células bacterianas viáveis do biofilme.



Legenda: A,B,C,D,E colônias corpos de prova visíveis a olho nu.
Fonte: Própria do autor

Cury et al. (2020) elucida que os dentifrícios são pastas de consistência de creme ou géis apresentando na sua composição diferentes substancias químicas, que levam componentes, dentre eles antimicrobianos até a cavidade bucal, neles são encontrados: abrasivos, umectantes, água, ligante, detergente, flavorizante, conservante, agentes preventivos e terapêuticos. Para prevenção da cárie e doenças periodontais são utilizados agentes antimicrobianos, sendo a

clorexidina o agente mais potente, as substâncias inseridas nos dentifrícios auxiliam na manutenção da saúde bucal.

A composição do extrato é um fator que pode contribuir com nutrientes para o desenvolvimento da matriz extracelular, garantindo resistência do biofilme. Pois o extrato aquoso de *Ziziphus joazeiro* Mart possui uma quantidade considerável de carboidratos. Os carboidratos principalmente a glicose são responsáveis pelo crescimento bacteriano como descreve os estudos de Pinheiro (2019). Que ao utilizar esse extrato no tratamento de biofilmes formados, viu-se que há uma complexidade e resistência de sua estrutura como matriz extracelular que atua como uma barreira neutralizando substâncias principalmente, as presentes no extrato, testado.

As evidências sobre a atividade antimicrobiana quando o extrato é utilizado como método de escovação, necessitam de comprovações que apresentem eficácias para a validação do seu uso na saúde bucal, sendo assim nestas condições os produtos naturais uma opção para a odontologia, declara Domingues et al. (2021).

Moreira et al. (2022) salienta que a ingestão de alimentos ricos em carboidratos e ácidos ajudam no crescimento bacteriano do biofilme, associado a uma má higiene oral (fator determinante). Desse modo, a cárie dentária tem sido avaliada de forma global, reconhecendo os fatores de risco: determinantes socioeconômicos, demográficos e comportamentais que influenciam no avanço dessa doença. Por isso, é indispensável os estudos químicos, biológicos e moleculares de cada fator associado a etiopatogênia da cárie.

4 CONCLUSÃO

O EAZJ apresentou resultado significativo frente a bactéria gram-positiva testada, com CIM 8 μg/mL, isso devido a sua composição química com a presença de: fenóis, taninos, antocianinas, antocianidinas, flavonas, flavanóis, xantonas, chaconas, auronas, leucoantocianidinas, catequinas, flavononas, alcaloides e saponinas.

Em relação a modulação, apenas os antibióticos: cefalotina, gentamicina e amicacina apresentaram sinergismo, o que não pode ser visto na benzilpenicilina. Quanto ao biofilme microbiano, o extrato aquoso não apresentou diminuição significativa. O pó de *Ziziphus joazeiro* é amplamente utilizado pela sociedade, principalmente em pessoas em situação de vulnerabilidade social. Dessa forma estudos futuros e com metodologias que possibilitem a

caracterização estrutural e química devem ser realizados para revelar maior quantidade de compostos presentes nesse extrato, bem como validar a sua utilização empírica.

REFERÊNCIAS

AGNELLI, P. B. **Redução do biofilme de *Streptococcus mutans* sobre um material restaurador dentário modificado com nanopartículas de prata – estudo *in vitro*.** 2011. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2011.

ALVIANO, W.S.; ALVIANO, D.S.; DINIZ, C.G.; ANTONIOLLI, A.R. ; ALVIANO, C.; FARIAS L.M.; CARVALHO, M. A. R. ; SOUZA, M. G.; BOLOGNESE, A.M. In vitro antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. **Arch Oral Biol**.; 53:545-52. 2008.

AUGUSCO, M. A. C; SARRI, D. R. A; SCAPIN, E. Politicas publicas voltadas para a fitoterapia com ênfasena odontologia. **Research, Soceity and Development.** v.11, n.9. 2022.

BARATTO, L. C: SAAD, G.A; LÉDA, P. H.O; SÁ, I. M; SEIXLACK, A. C. C. Fitoterapia contemporânea: tradição e ciência na clínica prática. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. **VITTALLE-Revista de Ciências da Saúde**, v. 30, n. 1, p. 191-194, 2018.

COTA, A. L. S; JUNKES, J. A; FREDERICO, R. C. P. Diversidade genotípica de Streptococcus mutans isolados de pré-escolares com e sem atendimento odontológico precoce; **Revista de odontologia da UNESP;** 48:pp 1-8. 2019.

COUTINHO, H. D. M. et al. Enhancement of the antibiotic activy against a multiresistant Escherechia coli by Mentha arvensis L. and chlorpromazine**. Chemoterapy**, v. 54, n. 4, p. 1250-1318, 2008.

CURY, J. A.; MIRANDA, L. F. B.; CALDARELLI, P. G.; TABCHOURY, C. P. M. DENTIFRÍCIOS FLUORETADOS E O SUS-BRASIL: O QUE PRECISA SER MUDADO?. **Tempus – Actas de Saúde Coletiva**, v. 14, n. 1, p. Pág. 09-27, 3 jul. 2020.

DANTAS, F. C. P; TAVARES, M. L. R; TARGINO, M. S; COSTA, A. P; DANTAS,
DODT, R. C. M. et al. Estudo experimental de uma intervenção educativa para promover a autoeficácia materna na amamentação**. Revista latino-americana de enfermagem**, v. 23, n. 4, p.725-732, 2015.

DOMINGUES, J. de J.; OLIVEIRA, L. T. A.; COSTA, M. D. M. de A. .; SILVA, L. de A. M.; NASCIMENTO, F.; DIETRICH, L. Use of phytotherapy and other vegetable and mineral components in the manufacture of natural dental products: Literature review. **Research, Society and Development**, *[S. l.]*, v. 10, n. 3, p. e57610313678, 2021.

DESOTI, V. C.; MALDANER, C. L.; CARLETTO, M. S.; HEINZ, A. A.; COELHO, M. S.; PIATI, D.; TIUMAN, T. S. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 3-13, jan./abr. 2011.

DUTRA JÚNIOR, M. P. .; MARANGON, L. C. .; GONÇALVES, M. da P. M. .; FELICIANO, A. L. P. . Análise fitossociológica e de indicadores ecológicos em duas áreas de Caatinga com históricos diferentes de uso no Sertão Paraibano. **Ciência Florestal**, *[S. l.]*, v. 32, n. 3, p. 1439–1459, 2022.

GOMES, M. P. PARADIGMA DA CÁRIE DENTÁRIA: ETIOLOGIA E TRATAMENTOS PREVENTIVOS E RESTAURADORES MINIMAMENTE INVASIVOS. **Revista Rede de Cuidados em Saúde**, v. 16, n. 1, 2022.

GUIMARÃES, D. O.; MOMENSSO, L.S; PUPO, M. T; Antibioticos: importância terapêutica e perpectivas para a descoberta e desenvolvimento de nossos agentes. **Quim. Nova** vol. 33, No 3, 667-679. 2010.

LIN, Y.; GONG, T.; MA, Q.; JING, M.; ZHENG, T.; YAN, J.; CHEN, J.; PAN, Y.; SUN, Q.; ZHOU, X.; LI. Y. Nicotinamide could reduce growth and cariogenic virulence of Streptococcus mutans. **Journal of Oral Microbiology.** 2022.

MACHADO MC. **Desenvolvimento de mudas de maracujazeiro (*Passiflora cincinnata* Mast.) em diferentes níveis de sombreamento.** Dissertação (Mestrado) apresentada à Universidade do Sudoeste da Bahia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Vitória da Conquista – Bahia – Brasil. 2009.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**, 3ª. ed. Fortaleza: UFC, 2009.

MAURO, AC; RIBEIRO, BD; GARRETT, R.; BORGES, RM; DA SILVA, TU; DE PAULA MACHADO, S.; DE ARAÚJO, JR; DE OLIVEIRA MASSAFRA, S.; DE OLIVEIRA JÚNIOR, FOR; D'ELIA, E. *Ziziphus joazeiro* Extrato da Casca do Caule como Inibidor da Corrosão Verde para Aços Leves em Meio Ácido. ***Processos.*** 9, nº. 8: 1323**.** 2021.

MECCATTI, V. M.; RIBEIRO, M. C. M.; OLIVEIRA, L. D. Os benefícios da fitoterapia na Odontologia. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, p. e46611327050-e46611327050, 2022.

MEDEIROS, D. S; ALMEIDA, M. A. L; LIMEIRA, R. R T; SANTIAGO, C. R. G; ARAÚJO, M. R. C; OLIVEIRA, J. K; LIMA, E.O. Plantas medicinais utilizadas no tratamento de problemas bucais no estado da Paraíba , Brasil: uma revisão de literatura. **Arch Health Invest .**2019.

MESQUITA, M. O. M; PINTO, T. M. F; MOREIRA, R. F. Potencial antimicrobiano de extratos e moléculas isolados de plantas da Caatinga: uma revisão. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 2, p. 216-230, 2017.

MOREIRA, E.M.; OLIVEIRA, L.B.G.; FERREIRA, M.L.N.; MELO, H.C.S. O PAPEL DA SACAROSE NA FORMAÇÃO DA CÁRIE DENTAL. **Scientia Generalis**, *[S. l.]*, v. 2, n. Supl.1, p. 90–90, 2022. no bioma Caatinga. Revista Principia , v. 2, n. 25, pág. 51-57, 2014.

OLIVEIRA, L. L.; COSTA, I. *A.; ARAUJO, R.B.; ARAUJO, V.M.A.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais sobre a formação do biofilme oral – revisão de literatura. **Jornada Odontológica dos Acadêmicos da Católica**, [S.l.], v. 4, n. 1, oct. 2018.

PINHEIRO, J. C. A. **Avaliação de bioatividades e da ação dos extratos aquosos de folhas e cascas do caule de Ziziphus joazeiro Mart. (Rhamnaceae) em biofilmes microbianos.** 2019. 148 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2019.

RIBEIRO, A. M. F. **Farmacologia dos antibióticos aminoglicosídeos**. 2017.

ROCHA, L. P. B. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e44101018282-e44101018282, 2021.

SALVAT A.A.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, R.H.; SUAREZ, E.Y. Screenng of some plants from northern Argentina for their antimicrobial activty**. Letters in Applied Microbiology**, v. 32 p. 293-297, 2001.

SANTOS, M. G. S.; SILVA, T. C; COSTA, R. R.; Barbosa, J. P. F.; SANTOS, A. F. Análise da prospecção fitoquímica da espécie Ziziphus cotinifolia Reissek. ***Diversitas Journal***, *6*(2), 2839–2858. 2021.

SILVA, T.C.L; VERAS,F.J; PEIXOTO, S.T.J.S; AMORIM,E.L.C; COSTA, E.P; ARAUJO,J.M. Atividades antioxidante e antimicrobiana do Ziziphus Joazeiro: avaliação comparativa entre cascas e folhas.**Revistas de Ciencias Farmaceutica Basicas e Aplicadas**. vol 32. 2011.

SIMOES, C. M. O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**, 6 ° ed. Florianopólis. Editora da UFSC, 2010.

SOARES, B.E.A.S.; BENÍCIO, V.C.; SOUZA, H.M.S.; SILVA, E.I.G.; MENDES, M.L.M.; MESSIAS, C.M.B.O. Caracterização físico-química do doce cremoso funcional do fruto do juazeiro (Ziziphus joazeiro Mart.). **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento** , *[S. l.]* , v. 11, n. 9, pág. e33411931772, 2022.

TAJRA, R. **Juazeiro, Ziziphus joazeiro Martius–Valor Terapêutico e Símbolo de Resistência e Esperança no Semiárido**. 2020.

VALE, J. V.; SUDÉRIO, F. B.; PAIVA, A. B. DE; SOUSA, A. F. Plantas da Caatinga: contextualizando os conteúdos de botânica**. ForScience**, v. 10, n. 1, p. e01012, 10 ago. 2022.

ANEXO A

UNILEÃO
Centro Universitário

Ilmo (a) Sr.(a) José Walber Gonçalves Castro,

Declaramos para os devidos fins que o projeto " PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DO PÓ DE JUÁ (Ziziphus joazeiro Mart) SOBRE O CONTROLE DO BIOFILME E DA CÁRIE DENTÁRIA. ", de protocolo n° 047, foi analisado no dia 10 de março de 2023 pelo comitê de ética de uso animal da Unileão e se encontra deferido. Não havendo modificações, o projeto terá um prazo de utilização de dois anos contados a partir da data de aceitação.

Juazeiro do Norte – CE, 10 de março de 2023.