

Avaliação da atividade antibacteriana de *Punica granatum* Linn. (Romã) frente a bactérias orais: Uma revisão integrativa

Evaluation of the antibacterial activity of *Punica granatum* Linn. (Pomegranate) against oral bacteria: An integrative review

Evaluación de la actividad antibacteriana de *Punica granatum* Linn. (Granada) contra las bacterias orales: Una revisión integradora

Recebido: 18/05/2021 | Revisado: 29/05/2021 | Aceito: 03/06/2021 | Publicado: 17/06/2021

Jullierme de Oliveira Morais

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4410-8681>

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: julliermeoliveira@hotmail.com

Jamile Marinho Bezerra de Oliveira Moura

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1286-3316>

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: jamilemarinho@hotmail.com

Pablo de Castro Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0081-9609>

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: pablodecastrosantos@gmail.com

Gilmara Celli Maia de Almeida

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4660-6297>

Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil

E-mail: gilmaracelli16@gmail.com

Resumo

Sabe-se que há um grande potencial de plantas medicinais com atividade antibacteriana, tornando-se alternativa para o combate às infecções. Dentre as plantas medicinais destaca-se a *Punica granatum* Linn. (Romã), que possui compostos bioativos utilizados para o tratamento de doenças e é utilizada como antisséptico oral para tratar a dor de garganta. Assim, o estudo apresentou como objetivo avaliar a atividade antibacteriana de *Punica granatum* L. frente a bactérias orais. Para isso, foi realizada uma revisão integrativa, com busca de artigos nas bases de dados PubMed, LILACS e SciELO, utilizando os termos “*punica granatum*”, “*pomegranate*”, “*dentistry*”, “*mouth*” e “*oral*”. Foram selecionados artigos de acordo com os seguintes critérios para inclusão: artigos originais disponíveis na íntegra, publicados nos idiomas inglês, espanhol ou português e publicados nos últimos 10 anos (2010 a 2020). A busca resultou em 126 artigos e após leitura de título e resumo, 16 artigos atenderam aos objetivos da pesquisa e foram incluídos na revisão. Os resultados demonstram que há efeitos antibacterianos principalmente a partir de estudos *in vitro* (n=13; 81,25%), com ação, na maioria dos estudos da revisão, sobre *Streptococcus mutans* e outras espécies de *Streptococcus* orais. Através das análises, constata-se que diferentes formas de utilização do material da planta possuem atividade antibacteriana *in vivo* e *in vitro*, em especial o extrato da casca. Portanto, a utilização da romã tem potencial antibacteriano podendo ser uma alternativa para prevenção e terapêutica de infecções orais.

Palavras-chave: Romã; Odontologia; Fitoterapia; Antibacterianos.

Abstract

It is known that there is a great potential of medicinal plants with antibacterial activity, becoming alternative for fighting infections. Among the medicinal plants, *Punica granatum* Linn. (Pomegranate), which has bioactive compounds used to treat diseases and is used as an oral antiseptic to treat sore throat. Thus, this study aimed to evaluate the antibacterial activity of *Punica granatum* L. against oral bacteria. For this, an integrative review was carried out, searching for articles in the PubMed, LILACS and SciELO databases, using the terms "punica granatum", "pomegranate", "dentistry", "mouth" and "oral". Articles were selected according to the following inclusion criteria: original articles available in full, published in English, Spanish or Portuguese, and published in the last 10 years (2010 to 2020). The search resulted in 126 articles and after reading the title and abstract, 16 articles met the research objectives and were included in the review. The results show that there are antibacterial effects mainly from *in vitro* studies (n=13; 81.25%), with action, in most studies of the review, on *Streptococcus mutans* and other species of oral *Streptococcus*. Through the analyses, it is found that different ways of using the plant material have antibacterial

activity in vivo and in vitro, especially the bark extract. Therefore, the use of pomegranate has antibacterial potential and can be an alternative for prevention and therapy of oral infections.

Keywords: Pomegranate; Dentistry; Phytotherapy; Antibacterial.

Resumen

Se sabe que existe un gran potencial de plantas medicinales con actividad antibacteriana, convirtiéndose en alternativa para el combate a las infecciones. Entre las plantas medicinales, *Punica granatum* Linn. (Granada), que tiene compuestos bioactivos utilizados para el tratamiento de enfermedades y se utiliza como antiséptico oral para tratar el dolor de garganta. Por lo tanto, el estudio tenía como objetivo evaluar la actividad antibacteriana de *Punica granatum* L. contra las bacterias orales. Para ello, se realizó una revisión integradora, con búsqueda de artículos en las bases de datos PubMed, LILACS y SciELO, utilizando los términos "punica granatum", "pomegranate", "dentistry", "mouth" y "oral". Los artículos fueron seleccionados de acuerdo con los siguientes criterios de inclusión: artículos originales disponibles en su totalidad, publicados en inglés, español o portugués y publicados en los últimos 10 años (2010 a 2020). La búsqueda dio como resultado 126 artículos y, tras leer el título y el resumen, 16 artículos cumplían los objetivos de la investigación y se incluyeron en la revisión. Los resultados muestran que existen efectos antibacterianos principalmente a partir de estudios in vitro (n=13; 81,25%), con acción, en la mayoría de los estudios de la revisión, sobre *Streptococcus mutans* y otras especies de *Streptococcus* orales. A través de los análisis, se encuentra que las diferentes formas de uso del material vegetal tienen actividad antibacteriana in vivo e in vitro, especialmente el extracto de corteza. Por lo tanto, el uso de la granada tiene potencial antibacteriano y puede ser una alternativa para la prevención y la terapia de las infecciones orales.

Palabras clave: Granada; Odontología; Fitoterapia; Antibacterianos.

1. Introdução

As pessoas ao redor do mundo, por meio do uso autônomo e de seus curadores, acumularam experiências e conhecimentos a respeito das plantas medicinais, as quais sempre estiveram presentes no cotidiano de vida e contexto cultural, com abrangência na área da saúde e alimentação da população (Antonio et al., 2013).

O Brasil é um país com grande biodiversidade que, associada a uma rica heterogeneidade étnica e cultural, detém um valioso conhecimento tradicional e popular associado ao uso de plantas medicinais, bem como possui potencial e tecnologia para desenvolver pesquisas que analisem os efeitos e terapêutica apropriados ao uso de fitoterápicos. Diante disso, para estimular a investigação científica, o Estado brasileiro editou o Decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006, que trata da criação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (Brasil, 2006).

Nesse contexto, dada à importância de estudar as espécies vegetais, sabe-se que há um grande potencial das mesmas com atividade antibacteriana, tornando-se alternativa para o combate às infecções. O estado de saúde é decorrente do equilíbrio da microbiota residente com as defesas do hospedeiro, e a disbiose pode levar a um estado de doença, por infecções locais ou sistêmicas, causadas por micro-organismos (How et al., 2016).

No contexto da saúde bucal, as infecções bucais biofilme dependentes mais prevalentes são cárie dentária e doença periodontal, além de ser comum infecções oportunistas em indivíduos vulneráveis e com desequilíbrio da microbiota residente, sendo a higiene oral precária, hábitos alimentares inadequados e fatores imunológicos do hospedeiro os principais fatores relacionados (Dziedzic et al., 2013; Derks et al., 2008). Nesse sentido, adequada higiene das superfícies dentárias e região do sulco gengival por meio de escovação e fio dental, além do uso de enxaguante bucal como coadjuvante, são condições necessárias à manutenção da saúde oral (Palmer et al., 2012).

Dentre as soluções antimicrobianas orais, a clorexidina ainda é a mais difundida como antisséptico padrão em decorrência do seu amplo espectro de ação em bactérias orais, além de alta substantividade. Contudo, possui algumas reações adversas, tais como alteração do paladar e manchas nas superfícies dos dentes e restaurações, sendo utilizada por períodos curtos de tempo (Gunsolley et al., 2010).

O aumento da incidência de reações adversas associadas aos fármacos convencionais atrelados a crescente resistência de bactérias aos antibióticos, germicidas e desinfetantes, como também a relevância clínica das infecções como um problema

de saúde pública, induziu o aumento das buscas por fitofármacos eficientes como opção terapêutica e que trouxessem menor toxicidade para os pacientes (Matias et al., 2013). Dessa forma estudar produtos naturais que possuam atividade antibacteriana, mostra-se muito promissor.

Com o nome botânico de *Punica granatum* Linn., a romã é um vegetal arbustivo de folha caducifólia pertencente à família *Punicaceae*. Nativa da Ásia e cultivada em diversos continentes, a *Punica granatum* possui compostos bioativos que são utilizados para o tratamento de doenças cardiovasculares, câncer, diabetes mellitus, doenças na cavidade oral, infecção bacteriana com resistência a antibióticos, diarreia com sangue e hemorroidas. Além disso, *P. granatum* é utilizada como antisséptico oral para tratar a dor de garganta. As partes anatômicas da planta, como pele do tronco, raízes, flores, sementes e fruto são comumente usadas para fins medicinais (Jurenka, 2008; Bagri, 2009).

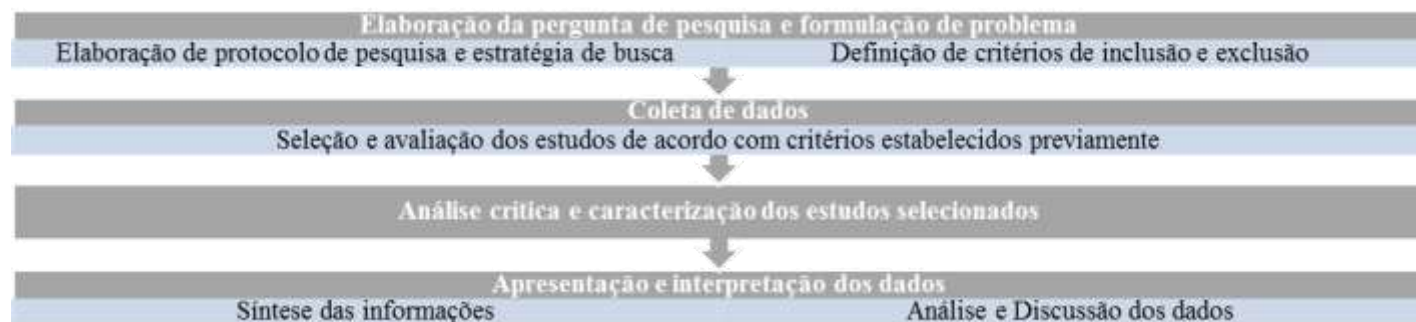
Vários estudos sobre as propriedades antimicrobianas de *P. granatum* foram relatados na literatura científica (Jurenka, 2008; Dahham, 2010). Pesquisadores identificaram que a utilização dos extratos a base de álcool, metanol e água mostraram alta atividade antimicrobiana contra patógenos não orais Gram-positivos e Gram-negativos (Vahabi, 2011; jurenka,2008; Mahboubi, 2015; Duman, 2009; Dastjerdi, 2014). De modo semelhante, foram encontrados estudos que identificam propriedades antibacterianas contra bactérias orais (Vahabi, 2011; Dastjerdi, 2014; Chinsebu, 2015).

Tendo em vista a alta prevalência de doenças orais por patógenos oportunistas e o aumento na busca por alternativas com plantas medicinais para prevenção de afecções na cavidade oral, práticas complementares como a fitoterapia mostra-se como aliada a tratamentos na área odontológica. Nesse sentido, o presente estudo busca fazer uma revisão integrativa avaliando a atividade antibacteriana de *Punica granatum* Linn. (Romã) frente a bactérias orais.

2. Metodologia

Foi realizada uma revisão integrativa com objetivo de avaliar a ação antibacteriana de *P. granatum* frente às bactérias orais. Para o desenvolvimento do estudo, foram realizadas algumas etapas, conforme verificado na Figura 1.

Figura 1. Etapas de desenvolvimento do estudo, baseado em Botelho (2011).

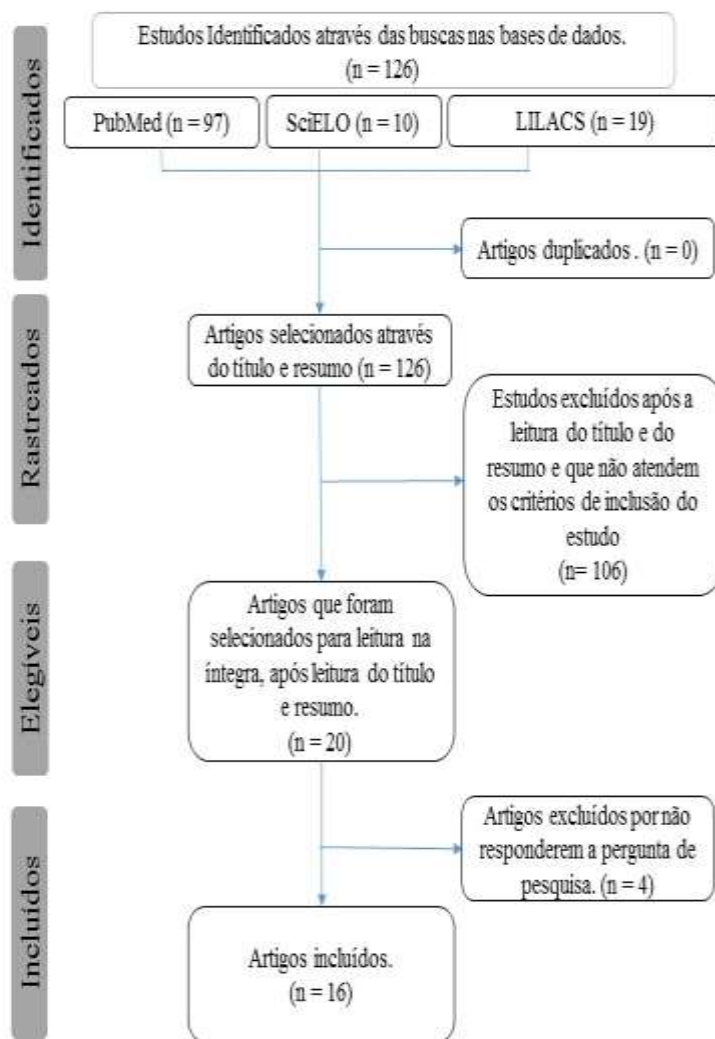


Fonte: Botelho (2011).

As buscas nas bases de dados foram realizadas entre os meses de julho a outubro de 2020. Os artigos foram coletados através das bases National Library of Medicine National Institutes of Health (PubMed), LILACS (Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e SciELO (Scientific Electronic Library Online). Foram utilizadas as palavras chaves “*punica granatum*”, “*pomegranate*”, “*dentistry*”, “*mouth*” e “*oral*”. Os termos foram combinados através dos operadores booleanos “AND” e “OR”. Os cruzamentos nas bases de dados dos termos foram: (“*punica granatum*” OR “*pomegranate*”) AND (“*dentistry*” OR “*mouth*” OR “*oral*”).

Foram selecionados artigos originais de pesquisas clínicas e/ou laboratoriais, a partir da revisão dos títulos e resumos, de acordo com os seguintes critérios para inclusão: artigos originais disponíveis na íntegra (texto completo); publicados nos idiomas inglês, espanhol ou português e como filtro de tempo foram selecionados artigos publicados nos últimos 10 anos (2010 a 2020). Foram excluídos artigos de opiniões, teses, dissertações e capítulo de livro, revisões de literatura; editoriais; relatos de experiência; cartas e demais artigos que não atendessem ao escopo desta pesquisa. A partir disso, foi realizada a leitura dos textos completos de cada artigo selecionado, buscando eleger os estudos que respondessem à pergunta de investigação para compor a amostra final da revisão. A seleção dos artigos foi feita de acordo com fluxograma apresentado na Figura 2.

Figura 2. Fluxograma da seleção dos estudos obtidos nas bases de dados, incluídos na revisão.



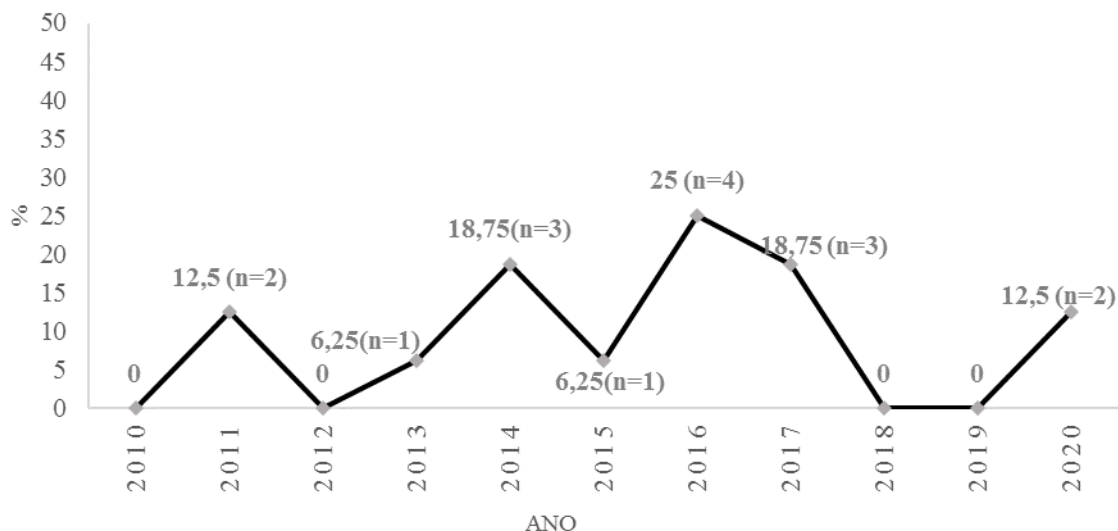
Fonte: Autores (2020).

A extração dos dados nos artigos foi a partir da metodologia do estudo, bactérias testadas, efeito antimicrobiano/resultados alcançados e forma de apresentação de *P. granatum* utilizada. A análise dos dados a partir dos 16 artigos que compõem a amostra ocorreu com base em leitura exploratória, seletiva, analítica e interpretativa dos artigos.

3. Resultados

A revisão integrativa foi constituída por uma amostra de 16 artigos, dos quais 13 foram identificados na base de dados PubMed e 3 na LILACS. Na Scielo não foi encontrado nenhum artigo que respondesse à questão de pesquisa. Nesse sentido, houve uma concentração desses estudos na base de dados MEDLINE - Pubmed de aproximadamente 81%. Quanto a distribuição por ano de publicação houve maior concentração nos anos de 2016 e 2017, conforme verificado da Figura 3.

Figura 3. Distribuição absoluta e percentual dos artigos, segundo ano de publicação. Caicó-RN, 2020.



Fonte: PubMed, LILACS.

Os resultados foram sintetizados no quadro 1, no qual são apresentados os artigos selecionados para essa revisão com título; autores; ano e país de publicação; metodologia/tipo de estudo; bactérias testadas; forma de utilização de *P. granatum* e principais resultados dos estudos.

Quadro 1. Distribuição dos artigos incluídos na revisão integrativa, de acordo com título, autores, ano de publicação, tipo de estudo, microrganismos testados, material utilizado e resultados. 2020.

TÍTULO	AUTOR(A), ANO/ PAÍS DE PUBLICAÇÃO	METODOLOGIA/TIPO DE ESTUDO	BACTÉRIA(S) TESTADA(S)	FORMA DE UTILIZAÇÃO DE <i>P.granatum</i>	RESULTADOS
Cytotoxicity of Brazilian plant extracts against oral microorganisms of interest to dentistry	de Oliveira JR et al., 2013/ Reino Unido.	<i>In vitro</i> Microdiluição em caldo (tubo de ensaio) Concentração Bactericida Mínima (CBM)	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Streptococcus mutans</i>	Extrato hidroalcoólico;	O extrato de <i>Punica granatum</i> exibiu citotoxicidade (taxa de sobrevivência celular >57%); CBM de 25 mg/mL para <i>S. aureus</i> e <i>S. epidermidis</i> e de 12,5 mg/mL para <i>S. mutans</i> .
<i>In Vitro</i> Antibacterial Activity of Pomegranate Juice and Peel Extracts on Cariogenic Bacteria	Ferrazzano GF et al., 2017/ Estados Unidos.	<i>In vitro</i> Diluição em tubo de ensaio Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida	<i>Streptococcus mutans</i> ; isolado clínico de <i>Rothia dentocariosa</i> Rd1.	Extrato hidroalcoólico; Casca e suco (sem semente)	Os extratos da casca inibem efetivamente o crescimento e a sobrevivência da cepa <i>S. mutans</i> e o isolado clínico de <i>R. dentocariosa</i> (CIM: 10µg/µL; CBM: 15µg/µL). Já o extrato de suco de romã apresentou alta atividade inibitória contra a cepa <i>S. mutans</i> (CIM:

		Mínima (CBM)			25µg/µL; CBM:40µg/µL) enquanto que, contra <i>R. dentocariosa</i> , mostrou uma atividade inibitória moderada (CIM 20 µg/µL e CBM 140 µg/µL).
Evaluation of Antibacterial Activity of Three Selected Fruit Juices on Clinical Endodontic Bacterial Strains	Behera S et al., 2017/ Índia.	<i>In vitro</i> Difusão em ágar (utilizando poços em placas de petri)	<i>Enterococcus faecalis</i> ; <i>Streptococcus mutans</i>	Suco	Dentre os sucos analisados o suco de romã exibiu pouca atividade antibacteriana, apresentando pequeno diâmetro da zona de inibição tendo um valor médio de 0,7 mm e Desvio-padrão (DP) de 0,48 contra <i>S. mutans</i> e média de 0,7mm (DP=0,67) para <i>E. faecalis</i> .
Antibacterial Effect of Hydroalcoholic Extract of Punica granatum Linn. Petal on Common Oral Microorganisms	Hajifattahi F et al., 2016/ Estados Unidos.	<i>In vitro</i> CIM e CBM	<i>Streptococcus sanguinis</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	Extrato hidroalcoólico Pétala	Extrato hidroalcoólico de <i>P. granatum</i> teve efeitos inibidores na proliferação de todas as cinco cepas bacterianas com maior efeito sobre <i>S. mutans</i> (CIM e CBM de 3,9mg/mL). Os maiores halos de inibição foram para <i>S. sanguinis</i> com média de 18,5mm (DP=0,41) para uma concentração de 31,25 mg/mL do extrato e uma média de 21,5mm (DP=0,41) para 120 mg/mL. Os menores halos foram em <i>E. faecalis</i> com média de 10,5mm (DP=0,41) para 31,25mg/mL do extrato e média de 15,5mm (DP=0,41) para 120 mg/mL.
Antibacterial Inhibitory Effects of Punica Granatum Gel on Cariogenic Bacteria: An in vitro Study	Millo G et al., 2017/ Índia.	<i>In vitro</i> Microdiluição em caldo (tubo de ensaio) Difusão em ágar (utilizando poços em placas de petri) CBM	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sanguinis</i> e <i>Lactobacillus casei</i>	Gel Pericarpo	O gel de <i>P. granatum</i> , equivalente a 0,234% de punicalagina (p/p) inibiu <i>S. mutans</i> e <i>S. sanguinis</i> , mas não <i>L. casei</i> . As CBM para <i>S. mutans</i> , <i>S. sanguinis</i> , e <i>L. casei</i> foram de 250, 125 e 500 mg/mL, respectivamente.
Effect of Punica granatum L. Flower Water Extract on Five Common Oral Bacteria and Bacterial Biofilm Formation on Orthodontic Wire.	Vahid Dastjerdi E et al., 2014/ Irã.	<i>In vitro</i> Difusão em ágar (utilizando poços em placas de petri) Macrodiluição em caldo (tubo de ensaio) CIM e CBM	<i>S. sanguinis</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. mutans</i> e <i>E. faecalis</i>	Extrato aquoso Flores	O extrato aquoso de <i>Punica granatum</i> L. apresentou propriedades antibacterianas significativas contra as 5 bactérias orais (maiores efeitos para <i>S. sanguinis</i> e <i>S. sobrinus</i> com CBM de 25mg/mL) e diminuiu a formação de biofilme em fio ortodôntico (redução de 35,5 a 100% ao considerar as 5 bactérias testadas). A maior redução no biofilme foi de <i>S. sanguinis</i> (93,7-100%) e a menor em <i>E. faecalis</i> (35,5-56,3%).
Down-Regulation of Glycosyl Transferase Genes in	Vahid-Dastjerdi E et al., 2016/ Irã.	<i>In vitro</i> Extração RNA e síntese de DNA Avaliação da	<i>Streptococcus mutans</i>	Extrato aquoso Flores	Em dada concentração inibitória mínima (6,125 mg/ mL), o extrato de <i>Punica granatum</i> suprimiu significativamente a expressão dos genes associados a formação de

Streptococcus Mutans by Punica Granatum L. Flower and Rhus Coriaria L. Fruit Water Extracts		expressão dos genes de glicosiltransferase (gtf) CIM			biofilme bacteriano (gtfB, C e D), com destaque para o gtfB que foi suprimido em 85,3% (DP=7,5).
Antimicrobial Efficacy of Punica granatum mesocarp, Nelumbo nucifera Leaf, Psidium guajava Leaf and Coffea Canephora Extract on Common Oral Pathogens: An In-vitro Study.	Mehta VV et al., 2014/ Índia.	<i>In vitro</i> Difusão em ágar (utilizando discos)	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Prevotella intermedia</i>	Extrato aquoso; Mesocarpo	O extrato de romã (concentração de 1 a 20%) foi eficaz na inibição do crescimento patógenos cariogênicos (halos de inibição variando de 20 a 34mm). Já quanto aos patógenos periodontais não se mostrou eficaz (ausência de halo indicando resistência bacteriana).
Antibacterial and antifungal activities of punica granatum peel extracts against oral pathogens.	Abdollahzadeh Sh et al., 2011/ Irã.	<i>In vitro</i> Difusão em ágar (utilizando discos)	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus sanguinis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> , <i>Lactobacillus viscosus</i> e <i>Lactobacillus acid aloplicans</i> .	Extrato metanólico Casca	Todas as concentrações de MEPGP (Extrato metanólico da casca de <i>Punica granatum</i>) apresentaram atividade antibacteriana significativa contra <i>S. aureus</i> e <i>S. epidermidis</i> (halos com valores médios de 7,5 a 13,5mm). Apenas nas concentrações de 8 mg / ml e 12 mg / ml MEPGP foi eficaz contra <i>L. acidophilus</i> , <i>S. mutans</i> e <i>S. salivarius</i> (halos com valores médios de 8,5 a 11,5mm). Além disso, nenhuma concentração de MEPGP inibiu <i>Actinomyces viscosus</i> de forma significativa (p>0,05 comparado ao controle).
<i>Punica granatum</i> L. (Pomegranate) Extract: In Vivo Study of Antimicrobial Activity against <i>Porphyromonas gingivalis</i> in <i>Galleria mellonella</i> Model	Aparecida Procópio Gomes L et al., 2016/ Egito.	<i>In vivo</i> Diluição em tubo de ensaio	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Extrato glicólico; Fruto	A injeção do extrato glicólico de romã (PGE) em qualquer dose (12,5; 6,25; 3,1 e 2,5 mg/mL) melhorou estatisticamente as taxas de sobrevivência das larvas.
Antimicrobial and anti-inflammatory potential therapy for opportunistic microorganisms.	Assaf AM et al., 2016/ Itália.	<i>In vitro</i> Difusão em ágar (utilizando poços em placas de petri)	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Extrato metanólico Planta seca Flores e cascas	O extrato metanólico de <i>P. granatum</i> apresentou atividade anti-inflamatória e antimicrobiana (CIM de 2,5 e 5,0mg/mL para <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i> , respectivamente).

		CIM			
<i>In vitro</i> Synergy of Polyphenolic Extracts From Honey, Myrtle and Pomegranate Against Oral Pathogens, <i>S. mutans</i> and <i>R. dentocariosa</i>.	Sateriale D et al., 2020/ Suíça.	<i>In vitro</i> Diluição em tubo de ensaio Difusão em ágar (utilizando discos) CIM e CBM.	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Rothia dentocariosa</i> .	Extrato hidroalcoólico; Casca da fruta seca.	Os testes microbiológicos sugerem que os extratos de mel de acácia, murta e romã são capazes de inibir as bactérias cariogênicas, também com efeitos sinérgicos. O extrato de romã apresentou para <i>R. dentocariosa</i> CIM de 10µg/µL e CBM de 15µg/µL e para <i>S. mutans</i> CIM de 10µg/µL e CBM de 25µg/µL.
Effect of pomegranate juice on dental plaque microorganisms (streptococci and lactobacilli).	Kote S et al., 2011/ Índia.	<i>In vivo</i>	<i>Streptococcus mutans</i> e <i>lactobacilos</i>	Suco	Houve maior redução nas cepas de lactobacilos (46%) em comparação com as cepas de estreptococos (23%).
Atividade antimicrobiana de substâncias fitoterápicas utilizadas no tratamento de afecções bucais: estudo <i>in vitro</i>.	da Silva, G. G et al., 2020/ Brasil.	<i>In vitro</i> Difusão em ágar (utilizando poços em placas de petri)	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus mitis</i>	Decoto Casca	O extrato de romã exibiu eficácia para o <i>Streptococcus mutans</i> (halos de inibição de 25 e 30mm).
A randomized, controlled clinical trial on the clinical and microbiological efficacy of <i>Punica granatum</i> Linn mouthwash.	de Medeiros Nóbrega, D. R et al., 2015/ Brasil.	<i>In vivo</i>	<i>Streptococci</i>	Enxaguante bucal	O enxaguatório bucal com <i>P. granatum</i> reduziu os valores médios de índice de placa e índice de sangramento gengival, mas sem diferença significativa (p=0,169 e p=0,06, respectivamente). No entanto, houve uma redução significativa (p=0,009) na contagem de estreptococos orais (redução de 22,69%).
<i>In vitro</i> assessment of the antimicrobial effects of pomegranate (<i>Punica granatum</i> L.) peel decoction on saliva samples.	Leite, S. J. O et al., 2014/ Brasil.	<i>In vitro</i> Difusão em ágar (utilizando poços em placas de petri)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Enterococcus faecalis</i>	Decoto Casca	Contra <i>P. aeruginosa</i> , a análise estatística revelou que a decocção de romã a 60, 80 e 100 mg / mL, produziu maiores zonas de inibição de crescimento (p <0,001) do que clorexidina.

Fonte: PubMed, LILACS.

4. Discussão

As propriedades antimicrobianas dos produtos fitoterápicos têm assumido grande importância como terapêutica alternativa na odontologia, combatendo infecções orais, mais precisamente as advindas do biofilme oral. Alguns compostos químicos importantes como os taninos estão presentes na composição da *P.granatum*, evidenciando propriedades antibacterianas (Vasconcelos et al., 2003). Os taninos podem inibir a ação de algumas enzimas bacterianas, como a glucosiltransferase, a qual é importante para o mecanismo de união entre outras bactérias e a superfície do dente. (Vasconcelos

et al., 2003; Koo et al, 2002). Dessa forma a inibição dessa união levará a diminuição da formação de biofilme, viabilizando o seu controle.

Os autores da revisão determinaram a Concentração Inibitória Mínima (CIM) em estudos *in vitro* para testar a atividade antibacteriana de *P. granatum* utilizando extratos hidroalcoólicos, aquosos e metanólicos. A CIM corresponde a menor concentração necessária para que os antimicrobianos venham a ter efeito frente aos microrganismos que acometem os indivíduos. Outro fator relevante além da CIM, que foi avaliado em alguns artigos, foi a Concentração Bactericida Mínima (CBM) a qual indica a magnitude que o antimicrobiano é letal para a bactéria. Assim, estudos foram realizados para avaliar a atividade antibacteriana de diferentes partes da romã (casca, suco da polpa e flor) frente a algumas bactérias presentes na cárie dentária e na doença periodontal, analisando tanto a CIM quanto a CBM.

Em um estudo realizado por Sateriale et al. (2020), no qual testou a atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico da casca da romã (*Punica granatum*) sobre as bactérias cariogênicas *Streptococcus mutans* e *Rothia dentocariosa*, foi observado que o extrato apresentava atividade inibitória sobre as cepas citadas, na concentração inibitória mínima CIM de 10 µg/µL, para ambas as bactérias. Tal estudo, corrobora os achados anteriores de Ferrazzano et al. (2017), que testou os efeitos antibacterianos do extrato hidroalcoólico da casca e do suco da romã, obtendo atividade antibacteriana para os dois extratos. A maior atividade antibacteriana observada foi do extrato da casca em relação ao suco, obtendo CIM de 10 µg/µL nas duas cepas, tanto para *S. mutans* quanto para *R. dentocariosa*. Já a CIM avaliada utilizando-se o suco foi de 25 µg/µL para *S. mutans* e CIM de 20 µg/µL para *R. dentocariosa*.

Observando a CBM, Sateriale et al. (2020), obteve valores de 25 µg/µL para *S. mutans* e 15 µg/µL para *R. dentocariosa* do extrato da casca. Já Ferrazzano et al. (2017), verificou uma forte atividade bactericida do extrato hidroalcoólico do suco de romã com uma concentração de 40 µg/µL para *S. mutans* e um efeito bactericida moderado contra *R. dentocariosa* com uma concentração de 140 µg/µL. Para a casca a atividade bactericida é detectável em uma concentração muito baixa, com valores iguais a 15 µg/µL para ambas as cepas.

Um estudo realizado por da Silva et al. (2020), que testou o efeito sobre *Streptococcus mutans* e *Streptococcus mitis*, mostrou que o decoto da casca de romã exibiu eficácia para inibir o desenvolvimento de *Streptococcus mutans*, apresentando um halo de inibição de 25 mm e 30 mm, impedindo o desenvolvimento dessa bactéria. Corroborando, outros estudos mostraram que ao utilizar a decocção como meio de extração utilizando a água no processo, extraíram da casca da romã uma grande quantidade de taninos com atividade antimicrobiana (Lorenzi & Matos, 2008; Jardini et al., 2010; Abdel Moneim et al., 2012). Isso demonstra nos achados um maior efeito antibacteriano atribuído ao extrato da casca em relação ao suco da polpa, bem como da maior sensibilidade do *S. mutans* em relação a outras bactérias da cárie.

Utilizando a decocção da romã, pode se observar o efeito sobre algumas bactérias oportunistas presentes no biofilme oral, tais como *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*. Leite et al. (2014), em um estudo *in vitro* utilizou as bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis* e testou atividade antibacterina da *P. granatum*, através da decocção. A análise estatística revelou que a 60, 80 e 100 mg / mL, a romã produziu maiores zonas de inibição de crescimento ($p < 0,001$) do que clorexidina contra *P. aeruginosa*. Nas condições utilizadas no teste *in vitro*, a decocção da romã não inibiu totalmente o crescimento de *Enterococcus faecalis*.

No estudo realizado por Aparecida Procópio Gomes et al. (2016), testou-se a atividade antibacteriana da *P. granatum* frente a *Porphyromonas gingivalis* em um estudo *in vivo* com larvas de *Galleria mellonella*. Foi observado que a injeção do extrato glicólico de romã (PGE) em qualquer dose melhorou estatisticamente as taxas de sobrevivência das larvas. No entanto, divergindo desses achados, um estudo *in vitro* realizado por Mehta et al. (2014), testou a atividade antibacteriana do extrato aquoso do mesocarpo de *P. granatum*, frente a *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Porphyromonas gingivalis* e

Prevotella intermedia. O extrato de romã foi eficaz na inibição do crescimento de patógenos cariogênicos. Já quanto aos patógenos periodontais não se mostrou eficaz.

Assaf et al. (2016) utilizaram o extrato metanólico de flores e casca de *P.granatum* e verificaram uma CIM de 2,5 mg/mL frente a *Staphylococcus aureus* destacando uma alta ação antibacteriana. Tal fato, condiz com os achados de Abdollahzadeh et al. (2011), no qual avaliou a atividade antibacteriana do extrato metanólico da casca de *Punica granatum* (MEPGP) mostrando que todas as concentrações de MEPGP apresentaram atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. Apenas nas concentrações de 8 mg/mL e 12 mg/mL MEPGP foi eficaz contra *Lactobacillus acidophilus*, *S. mutans* e *S. salivarius*. Além disso, nenhuma concentração de MEPGP inibiu *Actinomyces viscosus*, enquanto a concentração de 12 mg/mL foi o extrato mais eficaz contra *S. aureus* em comparação com os outros.

Ao testar a atividade antibacteriana do extrato aquoso da romã, Vahid Dastjerdi et al. (2014), através de um estudo *in vitro* frente a espécies de *Streptococcus sp.* (*S. sanguinis*, *S. sobrinus*, *S. salivarius* e *S. mutans*) e *E. faecalis*, verificaram que o extrato apresentou propriedades antibacterianas relevantes contra as bactérias orais testadas e evitou a formação de biofilme bacteriano em fio ortodôntico. Dados condizentes mostraram que o extrato hidroalcoólico da fruta de *P. granatum* teve alta eficácia contra microrganismos que formam o biofilme e apresentou como resultados, 84% de redução na formação de biofilme na cavidade oral de pacientes que utilizam aparelhos ortodônticos fixos (Menezes et al. 2006). Dessa forma, esses achados podem aumentar as perspectivas da redução de afecções orais devido a utilização de aparelhos ortodônticos pelo uso tanto de extratos aquosos quanto hidroalcoólicos.

Outros aspectos inibitórios do biofilme a considerar são os efeitos moleculares, como os abordados no estudo de Vahid-Dastjerdi et al. (2016), em que na CIM de 6,125 mg/mL o extrato de *P. granatum* suprimiu significativamente a expressão dos genes de *gtfB*, *gtfC* e *gtfD* presentes no *S. mutans*. Os genes *gtfB*, *C* e *D* codificam as enzimas glicosil transferases (GTF), que sintetizam polissacarídeos intracelulares (PIC) e os polissacarídeos extracelulares (PEC). Os PEC, especialmente os glucanos insolúveis em água, promovem a aderência inicial de *S. mutans* às superfícies do dente e a formação de biofilme maduro (Vasconcelos et al., 2003; Koo et al., 2002). Nesse sentido, um estudo mostrou que a deleção dos genes *gtfB* e *gtfC* em *S. mutans* teve como resultado a diminuição da formação de biofilme com acúmulo mínimo de bactérias e polissacarídeos *in vitro* (Koo et al., 2002). Isso de fato, pode sugerir que a supressão de genes *gtf*, causada por *P.granatum*, possa indicar uma abordagem alternativa para inibir a formação de biofilme.

Todos esses estudos vêm se inserindo como aliados da Fitoterapia no Brasil e no mundo para o tratamento de doenças antimicrobianas. Assim, sendo um dos fitoterápicos mais usados por curadores e comerciantes de raízes, para o tratamento de doenças orais, a *Punica granatum* Linn. é usada indiscriminadamente como automedicação (Santos et al., 2009). No entanto, os profissionais de Odontologia devem conhecer os efeitos adversos, bem como as interações com outros tipos de medicamentos.

Estudar partes específicas da planta de forma isolada, sem avaliar todas as estruturas anatômicas, pode ser um fator limitante dos estudos, visto que em uma determinada parte do vegetal pode existir mais compostos bioativos do que outra. Além disso, a utilização de cepas padrão em ambiente laboratorial em detrimento de pesquisas *in vivo*, no ambiente clínico, ou seja, com ecossistema natural (cavidade oral), aponta como outra limitação. Além disso, as pesquisas incluídas na revisão usam prioritariamente CIM e CBM o que se torna um fator limitante ao não apresentar testes de inibição/redução em biofilmes, que são estruturas complexas e refletem melhor a dinâmica do ambiente oral. A análise em biofilmes dentários possibilita evidenciar resultados de melhor qualidade científica, de maneira que os dados de CIM e CBM podem subsidiar novas pesquisas utilizando modelos de biofilme fundo de poço. Apesar das limitações, os estudos avaliaram diferentes formas de extratos e em diferentes concentrações, fatores que enriquecem o estudo.

Nesse contexto, ao longo do tempo, muito se tem buscado por meio da indústria e do comércio, produtos antimicrobianos para o controle do biofilme tanto da superfície dos dentes quanto para a gengiva. A clorexidina é um antibacteriano bastante usado como controle positivo em vários estudos sendo bastante eficaz em ensaios *in vitro* e amostras de saliva. Este antisséptico vem sendo utilizado há muitos anos como um colutório antibacteriano oral de amplo espectro. No entanto, apesar das vantagens, a clorexidina possui desvantagens no que diz respeito a uso prolongado, sendo um fator limitante. Tais desvantagens incluem descamação reversível da mucosa oral, manchas nos dentes e alterações no paladar (Hofer et al., 2011).

Assim, a Fitoterapia por meio do uso de plantas medicinais mostra-se aliada da Odontologia, como prática integrativa complementar na busca de soluções viáveis e seguras para o tratamento das afecções orais. A American Dental Association analisa e avalia os produtos antibiofilme e antigengivite, através de um Programa de Selo de Aceitação, pelo qual deve ser evidenciada a eficiência e a segurança do produto para uso em seres humanos (American Dental Association [ADA], 2008).

Um fato importante a ser observado é a carência de pesquisas que tratam da toxicidade e reações adversas da maior parte dos produtos medicinais, não ocorrendo, nesse sentido, uma preocupação com o uso seguro. Nesse sentido, tanto a *Punica granatum* Linn. (Romã) quanto outros vegetais podem ser promissores para o desenvolvimento de produtos antissépticos orais, desde que seja feita uma verificação mais aprofundada da toxicidade dos fitoterápicos. Assim, a amplitude das pesquisas pode viabilizar de forma segura o uso pela população.

5. Considerações Finais

Várias evidências da atividade antibacteriana da romã contra bactérias orais provêm de estudos *in vitro*, necessitando da constatação da eficácia *in vivo* por meio de ensaios clínicos controlados e randomizados. Nesse sentido, estudos em humanos com maior qualidade metodológica, utilizando diferentes concentrações e diferentes partes anatômicas da planta, são necessários para verificar a sua ação sobre a microbiota e influência no equilíbrio ecológico da cavidade oral.

Incluir esse e outros fitoterápicos é de grande importância na terapêutica clínica e medicamentosa desenvolvida pela Odontologia no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), contemplando os cuidados da Estratégia de Saúde da Família na perspectiva das Práticas Integrativas e Complementares em Saúde. Nesse sentido, é necessário que os profissionais da saúde sejam capacitados e que a população seja devidamente orientada sobre o uso adequado e seguro de fitoterápicos.

Apesar das limitações dos estudos incluídos na revisão, os resultados permitem concluir que diferentes formas de utilização do material de *Punica granatum* Linn. testadas são eficientes contra várias bactérias da cavidade oral, com potencial preventivo e terapêutico. Além disso, deve-se identificar os constituintes bioativos específicos na romã que podem ser eficazes como agentes antibacterianos, bem como a dose mais segura e forma de apresentação adequada para uso em seres humanos.

Referências

- Abdel Moneim A. E. (2012). Evaluating the potential role of pomegranate peel in aluminum-induced oxidative stress and histopathological alterations in brain of female rats. *Biological trace element research*, 150(1-3), 328–336. <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9498-2>
- Abdollahzadeh, S. h., Mashouf, R., Mortazavi, H., Moghaddam, M., Roozbahani, N., & Vahedi, M. (2011). Antibacterial and antifungal activities of punica granatum peel extracts against oral pathogens. *Journal of dentistry (Tehran, Iran)*, 8(1), 1–6. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3184731/>
- American Dental Association. (2008). *Acceptance program guidelines. Chemotherapeutic products for control of gingivitis*. Chicago: American Dental Association Council on Scientific Affairs. <https://www.yumpu.com/en/document/read/19431269/chemotherapeutic-products-for-the-control-of-gingivitis-american->
- Antonio, Gisele Damian, Tesser, Charles Dalcanale, & Moretti-Pires, Rodrigo Otávio. (2013). Contributions of medicinal plants to care and health promotion in primary healthcare. *Interface - Comunicação, Saúde, Educação*, 17(46), 615-633. <https://doi.org/10.1590/S1414-32832013005000014>

- Aparecida Procópio Gomes, L., Alves Figueiredo, L. M., Luiza do Rosário Palma, A., Corrêa Geraldo, B. M., Isler Castro, K. C., Ruano de Oliveira Fugisaki, L., Jorge, A., de Oliveira, L. D., & Junqueira, J. C. (2016). *Punica granatum* L. (Pomegranate) Extract: *In Vivo* Study of Antimicrobial Activity against *Porphyromonas gingivalis* in *Galleria mellonella* Model. *TheScientificWorldJournal*, 2016, 8626987. <https://doi.org/10.1155/2016/8626987>
- Assaf, A. M., Amro, B. I., Mashallah, S., & Haddadin, R. N. (2016). Antimicrobial and anti-inflammatory potential therapy for opportunistic microorganisms. *Journal of infection in developing countries*, 10(5), 494–505. <https://doi.org/10.3855/jidc.7610>
- Bagri, P., Ali, M., Aeri, V., Bhowmik, M., & Sultana, S. (2009). Antidiabetic effect of *Punica granatum* flowers: effect on hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 47(1), 50–54. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.09.058>
- Behera, S., Khetrpal, P., Punia, S. K., Agrawal, D., Khandelwal, M., & Lohar, J. (2017). Evaluation of Antibacterial Activity of Three Selected Fruit Juices on Clinical Endodontic Bacterial Strains. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 9(Suppl 1), S217–S221. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_164_17
- Botelho, L. L. R., de Almeida Cunha, C. C., & Macedo, M. (2011). O método da revisão integrativa nos estudos organizacionais. *Gestão e sociedade*, 5(11), 121-136. <https://www.gestoesociedade.org/gestoesociedade/article/view/1220>
- Brasil. Ministério da saúde. Secretaria de ciência, tecnologia e insumos estratégicos. Departamento de assistência farmacêutica. (2006). *Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos*. http://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf
- Chinsebu K. C. (2016). Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral health. *Acta tropica*, 154, 6–18. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.10.019>
- da Silva, G. G., de Souza, J. H. A., de Moura Lima, A. E. C., da Rocha Santos, L. M., Pinheiro, J. C., Leite, R. B., ... & Macedo, M. R. C. (2020). Atividade antimicrobiana de substâncias fitoterápicas utilizadas no tratamento de afecções bucais: estudo in vitro. *Revista Ciência Plural*, 6(2), 113-124. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1100316>
- Dahham, S. S., Ali, M. N., Tabassum, H., & Khan, M. (2010). Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci*, 9(3), 273-281. <https://portal.arid.my/Publications/148b7c19-cf2e-4e8.pdf>
- de Medeiros Nóbrega, D. R., Santos, R. L., Soares, R. D. S. C., Alves, P. M., Medeiros, A. C. D., & Pereira, J. V. (2015). A randomized, controlled clinical trial on the clinical and microbiological efficacy of *Punica granatum* Linn mouthwash. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 15(1). <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-796375>
- de Oliveira, J. R., de Castro, V. C., das Graças Figueiredo Vilela, P., Camargo, S. E., Carvalho, C. A., Jorge, A. O., & de Oliveira, L. D. (2013). Cytotoxicity of Brazilian plant extracts against oral microorganisms of interest to dentistry. *BMC complementary and alternative medicine*, 13, 208. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-208>
- Derks, A., Frencken, J., Bronkhorst, E., Kuijpers-Jagtman, A. M., & Katsaros, C. (2008). Effect of chlorhexidine varnish application on mutans streptococci counts in orthodontic patients. *American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics: official publication of the American Association of Orthodontists, its constituent societies, and the American Board of Orthodontics*, 133(3), 435–439. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2007.10.024>
- Duman, A. D., Ozgen, M., Dayisoylu, K. S., Erbil, N., & Durgac, C. (2009). Antimicrobial activity of six pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their relation to some of their pomological and phytonutrient characteristics. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 14(5), 1808–1817. <https://doi.org/10.3390/molecules14051808>
- Dziedzic, A., Kubina, R., Wojtyczka, R. D., Kabała-Dzik, A., Tanasiewicz, M., & Morawiec, T. (2013). The antibacterial effect of ethanol extract of polish propolis on mutans streptococci and lactobacilli isolated from saliva. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2013, 681891. <https://doi.org/10.1155/2013/681891>
- Ferrazzano, G. F., Scioscia, E., Sateriale, D., Pastore, G., Colicchio, R., Pagliuca, C., Cantile, T., Alcidi, B., Coda, M., Ingenito, A., Scaglione, E., Ciciatiello, A. G., Volpe, M. G., Di Stasio, M., Salvatore, P., & Pagliarulo, C. (2017). *In Vitro* Antibacterial Activity of Pomegranate Juice and Peel Extracts on Cariogenic Bacteria. *BioMed research international*, 2017, 2152749. <https://doi.org/10.1155/2017/2152749>
- Gunsolley J. C. (2010). Clinical efficacy of antimicrobial mouthrinses. *Journal of dentistry*, 38 Suppl 1, S6–S10. [https://doi.org/10.1016/S0300-5712\(10\)70004-X](https://doi.org/10.1016/S0300-5712(10)70004-X)
- Hajifattahi, F., Moravej-Salehi, E., Taheri, M., Mahboubi, A., & Kamalinejad, M. (2016). Antibacterial Effect of Hydroalcoholic Extract of *Punica granatum* Linn. Petal on Common Oral Microorganisms. *International journal of biomaterials*, 2016, 8098943. <https://doi.org/10.1155/2016/809894>
- Hofer, D., Meier, A., Sener, B., Guggenheim, B., Attin, T., & Schmidlin, P. R. (2011). Biofilm reduction and staining potential of a 0.05% chlorhexidine rinse containing essential oils. *International journal of dental hygiene*, 9(1), 60–67. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2009.00437.x>
- How, K. Y., Song, K. P., & Chan, K. G. (2016). *Porphyromonas gingivalis*: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. *Frontiers in microbiology*, 7, 53. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00053>
- Jardini, F. A., De Lima, A., Mendonca, R. M. Z., Pinto, R. J., Mancini, D. A. P., & Mancini-Filho, J. (2010). Phenolic compounds from pulp and seeds of pomegranate (*Punica granatum*, L.): antioxidant activity and protection of MDCK cells/Compostos fenolicos da polpa e sementes de roma (*Punica granatum*, l.): atividade antioxidante e protetora em celulas MDCK. *Alimentos e Nutricao [Brazilian Journal of Food and Nutrition]*, 21(4), 509+. <https://link.gale.com/apps/doc/A340423408/HRCA?u=anon~603fdefd&sid=HRCA&xid=0730516a>
- Jurenka J. S. (2008). Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum* L.): a review. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic*, 13(2), 128–144. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18590349/>
- Koo, H., Rosalen, P. L., Cury, J. A., Park, Y. K., & Bowen, W. H. (2002). Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(5), 1302–1309. <https://doi.org/10.1128/aac.46.5.1302-1309.2002>

- Kote, S., Kote, S., & Nagesh, L. (2011). Effect of pomegranate juice on dental plaque microorganisms (streptococci and lactobacilli). *Ancient science of life*, 31(2), 49–51. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3530267/>
- Leite, S. J. O., de Oliveira, F. M., Almeida, L. M. S., Gusmão, M. A. N., Chedier, L. M., Vasconcelos, E. G., & Pinto, P. F. (2014). In vitro assessment of the antimicrobial effects of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel decoction on saliva samples. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 35(1). <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-718823>
- Lorenzi, H., & Matos, F. J. (2002). *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=LIBROS.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=008440>
- Mahboubi, A., Asgarpanah, J., Sadaghiyani, P. N., & Faizi, M. (2015). Total phenolic and flavonoid content and antibacterial activity of *Punica granatum* L. var. pleniflora flowers (Golnar) against bacterial strains causing foodborne diseases. *BMC complementary and alternative medicine*, 15, 366. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0887-x>
- Matias, I. J. S. E. F., & Coutinho, I. R. M. H. D. (2013). Modulation of the antibiotic activity by the essential oils of *Origanum vulgare* and *Coriandrum sativum*. *Journal of Food and Nutrition Research*, 52(3), 191-194. file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/jfnr20133p_6%20(2).pdf
- Mehta, V. V., Rajesh, G., Rao, A., Shenoy, R., & B H, M. P. (2014). Antimicrobial Efficacy of *Punica granatum* mesocarp, *Nelumbo nucifera* Leaf, *Psidium guajava* Leaf and *Coffea Canephora* Extract on Common Oral Pathogens: An In-vitro Study. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 8(7), ZC65–ZC68. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/9122.4629>
- Menezes, S. M., Cordeiro, L. N., & Viana, G. S. (2006). *Punica granatum* (pomegranate) extract is active against dental plaque. *Journal of herbal pharmacotherapy*, 6(2), 79–92. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17182487/>
- Millo, G., Juntavee, A., Ratanathongkam, A., Nualkaew, N., Peerapattana, J., & Chatchiwattana, S. (2017). Antibacterial Inhibitory Effects of *Punica Granatum* Gel on Cariogenic Bacteria: An *in vitro* Study. *International journal of clinical pediatric dentistry*, 10(2), 152–157. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1426>
- Palmer, E. A., Vo, A., Hiles, S. B., Peirano, P., Chaudhry, S., Trevor, A., Kasimi, I., Pollard, J., Kyles, C., Leo, M., Wilmot, B., Engle, J., Peterson, J., Maier, T., & Machida, C. A. (2012). Mutans streptococci genetic strains in children with severe early childhood caries: follow-up study at one-year post-dental rehabilitation therapy. *Journal of oral microbiology*, 4, 10.3402/jom.v4i0.19530. <https://doi.org/10.3402/jom.v4i0.19530>
- Santos, Esther Bandeira, Dantas, Gesira Soares, Santos, Hosana Bandeira, Diniz, Margareth F. F. Melo, & Sampaio, Fabio Correia. (2009). Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(1b), 321-324. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000200024>
- Sateriale, D., Facchiano, S., Colicchio, R., Pagliuca, C., Varricchio, E., Paolucci, M., Volpe, M. G., Salvatore, P., & Pagliarulo, C. (2020). *In vitro* Synergy of Polyphenolic Extracts from Honey, Myrtle and Pomegranate Against Oral Pathogens, *S. mutans* and *R. dentocariosa*. *Frontiers in microbiology*, 11, 1465. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01465>
- Vahabi, S., Najafi, E., & Alizadeh, S. (2011). In vitro antimicrobial effects of some herbal essences against oral pathogens. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(19), 4870-4878. https://academicjournals.org/article/article1380735018_Vahabi%20et%20al.pdf
- Vahid Dastjerdi, E., Abdolazimi, Z., Ghazanfarian, M., Amdjadi, P., Kamalinejad, M., & Mahboubi, A. (2014). Effect of *Punica granatum* L. Flower Water Extract on Five Common Oral Bacteria and Bacterial Biofilm Formation on Orthodontic Wire. *Iranian journal of public health*, 43(12), 1688–1694. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4499091/>
- Vahid-Dastjerdi, E., Monadi, E., Khalighi, H. R., & Torshabi, M. (2016). Down-Regulation of Glycosyl Transferase Genes in *Streptococcus mutans* by *Punica Granatum* L. Flower and *Rhus Coriaria* L. Fruit Water Extracts. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 15(2), 513–519. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27642322/>
- Vasconcelos, L. C., Sampaio, M. C., Sampaio, F. C., & Higinio, J. S. (2003). Use of *Punica granatum* as an antifungal agent against candidosis associated with denture stomatitis. *Mycoses*, 46(5-6), 192–196. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0507.2003.00884.x>