



**UNIVERSIDADE SALVADOR – UNIFACS
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**

ISLA KALENA RIOS DE OLIVEIRA SILVA

LAÍRES RIOS DE OLIVEIRA SOUZA

ROSICLEIDE ANDRADE SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Punica granatum*
L. FRENTE MICRORGANISMOS DA MUCOSA ORAL**

FEIRA DE SANTANA

2022

ISLA KALENA RIOS DE OLIVEIRA SILVA

LAÍRES RIOS DE OLIVEIRA SOUZA

ROSICLEIDE ANDRADE SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Punica granatum*
L. FRENTE MICRORGANISMOS DA MUCOSA ORAL**

Trabalho de conclusão de curso em formato de artigo científico apresentado ao colegiado do curso de farmácia do Centro universitário UNIFACS de Feira de Santana para obtenção do título de Bacharel em farmácia.

Orientador: Jéssica Lima

FEIRA DE SANTANA

2022

SUMÁRIO

RESUMO:	4
INTRODUÇÃO.....	5
MATERIAL E MÉTODO.....	6
Coleta.....	6
Preparo do extrato	6
Padronização dos inóculos bacteriano	6
Avaliação antimicrobiana através do método de difusão em disco	6
RESULTADOS E DISCUSSÃO:	7
CONSIDERAÇÕES FINAIS	13
REFERÊNCIAS	14

Resumo: Introdução: A *Punica Granatum L.* popularmente conhecida como romã, possui propriedades medicinais anti-inflamatórias, antimicrobianas e antioxidante. Objetivo: O objetivo do presente estudo é de avaliar o potencial antimicrobiano da *P. granatum* frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Streptococcus mitis*. Metodologia: A romã, foi coletada na zona rural do município de Pé de Serra, posteriormente o extrato foi obtido por decocção. Utilizou-se a técnica de difusão em disco frente ao *S. aureus*, *S. mutans* e *S. mitis* para análise antimicrobiana. Resultados: Após a avaliação antimicrobiana através do método de difusão em discos pode-se observar halos de inibição para o *S. mitis*, que se destacou, sendo considerado sensível ao decocto da casca de romã, e a *S. aureus* moderadamente sensível. Já a semente não foi ativa para nenhum dos microrganismos testados, sendo classificada como não sensível. Conclusão: A decocção da casca do fruto da romã, em estudo *in vitro*, apresentou atividade inibitória frente as bactérias gram-positiva *S. mitis* e *S. aureus*, residentes da cavidade oral. Sugere-se assim, que o extrato de romã é um potencial inibidor de bactérias presentes na mucosa oral, que podem estar envolvidas na patogenicidade de infecções.

Palavras-chave: Romã. Difusão em disco. Decocção . Mucosa Oral

Abstract: Introduction: *Punica Granatum L.*, popularly known as pomegranate, has anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant medicinal properties. Objective: The objective of the present study is to evaluate the antimicrobial potential of *P. granatum* against the microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* and *Streptococcus mitis*. Methodology: The pomegranate was collected in the rural area of the municipality of Pé de Serra, later the extract was obtained by decoction. The disk diffusion technique was used against *S. aureus*, *S. mutans* and *S. mitis* for antimicrobial analysis. Results: After the antimicrobial evaluation using the disc diffusion method, inhibition halos could be observed for *S. mitis*, which stood out, being considered sensitive to pomegranate peel decoction, and *S. aureus* moderately sensitive. The seed was not active for any of the microorganisms tested, being classified as non-sensitive. Conclusion: The pomegranate peel decoction, in an *in vitro* study, showed inhibitory activity against the gram-positive bacteria *S. mitis* and *S. aureus*, residents of the oral cavity. It is therefore suggested that pomegranate extract is a potential inhibitor of bacteria present in the oral mucosa, which may be involved in the pathogenicity of infections.

Keywords: Pomegranate. Disc broadcast. Decoction. Oral mucosa

INTRODUÇÃO

As plantas possuem potencial terapêutico e destacam-se pela sua relevância cultural. A medicina tradicional é transmitida de geração a geração, se mantendo viva e gerando incentivos de pesquisas com plantas que são utilizadas popularmente com finalidades terapêuticas^{1,2}.

Dentre as pesquisas realizadas com produtos naturais encontra-se a busca de novos agentes antimicrobianos, uma vez que, a resistência bacteriana é considerada um problema de saúde pública³. Sendo assim, as triagens *in vitro* como, os métodos de difusão em disco e concentração mínima inibitória, podem ser utilizados para avaliar o potencial de extratos vegetais frente diferentes microrganismos⁴.

Diversos métodos de difusão possuem uma importância sobre atividade antimicrobiana em um país de grande biodiversidade como o Brasil, pois podem ser utilizados para a primeira triagem na descoberta da atividade farmacológica das espécies. O método de difusão em ágar é comumente utilizado e sua ampla utilização é devida a sua simplicidade e baixo custo⁵.

A *Punica granatum*, conhecida popularmente como romã, é uma das plantas com potencial terapêutico conhecida por sua capacidade antioxidante, antiinflamatória, antimicrobiana^{6,7,8}. Seu fruto e casca são usados no tratamento de doenças parasitárias intestinais, diarreia, distúrbios da garganta como faringites, laringites, bronquites, além de abscessos de pele e mucosas^{6,7,9}.

A *Punica granatum* é um vegetal arbustivo de folha caducifolia pertencente à família Punicaceae, nativo do oriente médio, mas seu cultivo é praticado em diversos países, como Estados Unidos, Argentina, Austrália, Chile e Brasil¹⁰. O fruto da romã é composto pela semente e pela casca, a semente é a parte comestível e constitui 52% do total do fruto, contém 78% de suco e 22% de sementes. A casca é a parte não comestível, porém usada na medicina popular especialmente para gargarejos⁹. A presença de

antocianinas (cianidina 3,5-diglicosídeo), flavanoides (quercetina), ácidos Fenólicos (ácido Cafeico) e taninos nessas cascas já foram relatadas em estudos anteriores ⁷.

No tratamento de infecções como gengivite e faringite o uso popular do decocto da casca de romã na forma de gargarejo é bastante comum.^{11, 12}. Sendo assim, o objetivo do presente estudo é de avaliar o potencial antimicrobiano da *P. granatum* frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Streptococcus mitis*.

MATERIAL E MÉTODO

Coleta

A Romã (*P. granatum*), foi coletada na zona rural do município de Pé de Serra situada na região nordeste no estado da Bahia, a aproximadamente 210 km da capital Salvador, bioma Caatinga¹³.

Preparo do extrato

Inicialmente foi feita a separação das sementes e casca, pesou-se 10g do material vegetal que foi submetido a extração por decocção em 100 ml de água destilada, por 20 min.

Padronização dos inóculos bacteriano

Os microrganismos utilizados foram *Streptococcus mutans* ATCC (00456), *Streptococcus mitis* ATCC (00456) e *Staphylococcus aureus* ATCC (00402). Estes foram diluídos de acordo com a escala 0,5 McFarland equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/ml.

Avaliação antimicrobiana através do método de difusão em disco

A avaliação antimicrobiana foi realizada através do método de difusão em disco, descrita por Bona e colaboradores (2014), com modificações. Foram utilizados discos estéreis de 40 mm, contendo 20 µL do extrato obtido por decocção. Posteriormente foram aplicados em placas de Petri contendo meio o BHI (Brain Heart Infusion – DIFCO) que foram inoculadas

previamente com 100 µL dos microrganismos testes (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*). As placas foram incubadas por 24 h a 35 ± 2°C.

Após esse período foi possível observar através da leitura visual os halos de inibição de crescimento bacteriano que foram quantificados em milímetros com o auxílio do paquímetro. A classificação da sensibilidade foi definida de acordo com a largura do diâmetro da zona de inibição (tabela 1) seguindo o critério de Djabou e colaboradores (2013)¹⁴.

Tabela 1: Classificação da atividade antimicrobiana, através da zona de inibição (ZDI)

Classificação	Zona de inibição (mm)
Não sensível (-)	≤ 8
Moderadamente sensível (±)	8-14
Sensível (+)	14-20

Fonte: DJABOU et al., 2013

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O processo de extração pela técnica por decocção é uma das mais utilizadas pela população para realizar gargarejo. Desta forma, a técnica foi escolhida para avaliar a suscetibilidade dos microrganismos residentes da mucosa oral ao decocto das sementes e casca da romã, utilizando assim a planta da mesma forma que a população faz uso. A Tabela 2 apresenta os halos de inibição obtidos para o *S. aureus*, *S. mutans*, *S. mitis*.

Tabela 2: Diâmetro dos halos de inibição bacteriana

Amostra	Halo de inibição (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. mitis</i>

Decocto casca	13,66 ± 3,51	**	22,33 ± 2,0
Decocto semente	**	**	**
Padrão cloranfenicol	41,00 ± 1,00	66,66 ± 1,52	60,00 ± 0,12

** Não apresentaram halo de inibição

A tabela 2 apresenta a classificação pela zona de inibição para os microrganismos testados, sendo levado em consideração parâmetros descritos por DJABOU e colaboradores (2012)¹⁴.

Tabela 2: Classificação dos extratos segundo DJABOU et al., 2013

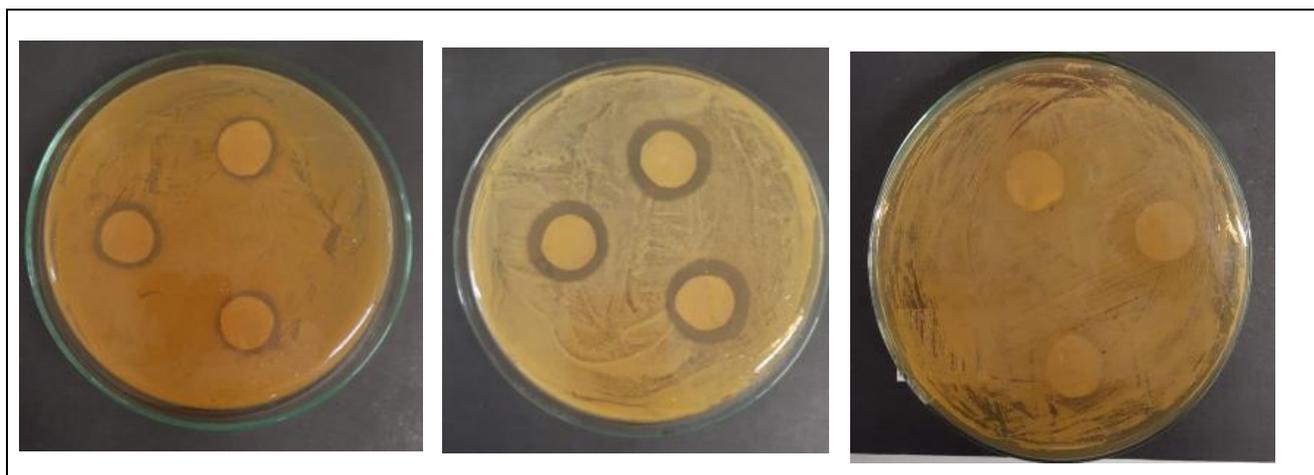
Amostra	Classificação segundo DJABOU et al., 2012		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. mitis</i>
Decocto casca	Moderadamente sensível	Não sensível	Sensível
Decocto semente	Não sensível	Não sensível	Não sensível
Padrão cloranfenicol	Sensível	Sensível	Sensível

Através da figura percebe-se que o halo de inibição para o *S. mitis* se destacou, sendo considerado sensível (tabela 2) ao decocto da casca de romã. Já a semente não foi ativa para nenhum dos microrganismos testados, sendo classificada como não sensível (tabela 2).

Estudos mostram que a decocção em água favorece a extração de compostos fenólicos como os taninos das cascas de romã, destacando que os taninos apresentam pronunciada atividade antimicrobiana^{15,16}. Já foi relatado, que polifenóis apresentam efeito antisséptico e cicatrizante^{15, 17}.

Sendo assim, pode-se sugerir que a decocção pode ter favorecido a extração de metabólitos secundários, que são ativos frente ao *S. mitis* e *S. aureus*.

Figura 1: Halo de inibição da *S. aureus* (A), *S. mitis* (B) e *S. mutans* (C).



Estudos realizados por KHAN e colaboradores (2017), avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato aquoso, hexânico, etanólico e clorofórmico, sendo o extrato aquoso inativo para *S. aureus*, resultado este contrário ao encontrado no presente trabalho¹⁸. Silva e colaboradores (2020), também avaliaram a atividade antimicrobiana do decocto de romã e obtiveram halo de inibição de 25 mm para *Streptococcus mutans* e 30 mm *Streptococcus mitis*⁷.

Atividade antibacteriana contra *S. aureus*, *S. epidermidis*, *L. acidophilus*, *S. mutans* e *S. salivarius*, já foi observada no extrato da casca de romã, essa atividade é principalmente encontrada na saliva e podem ser a causa de patologias tanto nos tecidos duros quanto nos moles da cavidade bucal, corroborando assim com os resultados encontrados^{15,17}.

De acordo com a pesquisas realizadas, sugere-se que o extrato de romã é um potencial inibidor de bactérias presentes na mucosa oral, que podem estar envolvidas na patogenicidade de infecções, principalmente por sua propriedade antimicrobiana^{19,20}.

DAHAM, (2010), em sua pesquisa mostrou atividade antibacteriana e antifúngica da romã no extrato de casca e da semente entre os microorganismos a *S. aureus*, onde foi verificado esse potencial tanto na casca quanto na semente, porém o efeito antibacteriano nas cascas ele tende a uma variação conforme o tipo as semente. O melhor resultado entre os tipos de semente foi na semente vermelha²¹.

Um outro estudo de Pinto e Costa (2016), realizou testes em amostras de cascas de sementes de romã, onde puderam identificar flavonoides, por meio do qual obtiveram resultado positivo nas cascas e negativo nas sementes e são os compostos fitoquímicos os responsáveis pelas várias ações farmacológicas atribuídas à romã, nas quais se destacam, principalmente, atividade antiinflamatória e antibacteriana²². Isso poderia ser uma explicação que corrobora com os resultados obtidos, visto que os flavonoides encontrados na casca não são os mesmos da semente, por isso a obtenção do resultado negativo para atividade antimicrobiana nas sementes.

Pesquisas sobre a semente da romã e suas propriedades nutricionais têm atraído a atenção de muitas pesquisas em especial as do óleo obtido das sementes. No entanto, estudos sobre a extração de sementes de romã são escassas, assim como seu efeito. Alguns pesquisadores já apontaram que a qualidade fisiológica da semente está associada ao seu vigor, e vários fatores devem ser considerados quando fala-se de desse vigor, principalmente ao regular processo de germinação e superação da dormência^{23,24}.

Devido a multiplicação de formas prejudiciais das bactérias no organismo, resulta-se em infecções bacterianas que estão relacionadas e rotineiras no trato da mucosa, principalmente infecções de garganta²⁵. Como consequência dessas infecções que mais acometem a população é a dor de garganta, é uma condição comum relacionada com a infecção no trato respiratório superior e a recorrência dessa infecção pode derivar em

amidalite crônica. A amidalite é causada principalmente por infecções bacteriana, principalmente causada pela *S. aureus* ^{26,27}.

Um creme dental à base de romã foi testado em alunos e pode-se observar uma diminuição de micro-organismos como *S. mutans*, reduzindo o número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) em até dez vezes, mostrando assim o resultado positivo do creme dental no referente à redução de microorganismos²⁸.

O *S. mutans* tem se destacado, principalmente associados à saúde bucal, já foi relatado que a *Candida albicans* foi detectada frequentemente associadas com essa bactéria. Isso acontece porque esse fungo pode interagir sinergicamente com *S. mutans* e colonizar a superfície dos dentes através de interações mediadas por substâncias poliméricas extracelulares e esses carboidratos e as proteínas presentes nela atuam como uma fonte de alimento para bactérias^{29,30}.

Essas proteínas que podem ser encontradas na microbiota oral possuem o papel de auxiliar na fixação de organismos pioneiros, incluindo estreptococos, e têm um papel fundamental na homeostase microbiana oral, o que mostra a importância do nosso estudo correlacionar estreptococos com essa microbiota³¹.

Dentre as espécies de estreptococos comuns na cavidade bucal está presente o *S. mitis*, que costumam ser patógenos oportunistas, particularmente associados à endocardite infecciosa, e também são considerados os primeiros colonizantes primários associados à saúde bucal podendo se ligar com maior facilidade à película salivar, crescendo rapidamente³².

Sendo o gargarejo um resultado utilizado por agitação de infuso, decocto ou de maceração na garganta pelo ar que se expelle da laringe, muito utilizado como uma alternativa no combate a infecções da garganta, sendo que ao final do gargarejo o líquido deve ser jogado fora. Estudos

associando plantas e a sua utilização na forma de gargarejo para tratamento de infecções bucais ganham destaque quanto a utilização da casca de romã na forma de gargarejo, do macerado e do chá para tratar infecções comuns como a gengivite e faringite^{11, 12}.

O gargarejo é considerada uma forma tópica para o uso da romã, e que apresenta características do ponto de vista microbiológico sendo utilizado no tratamento de gengivite e faringite devido ao seu perfil fitoquímico. O gargarejo da romã possui benefícios na função endotelial e sua composição de planta medicinal usada pela terapêutica popular^{12, 33}.

Comparando com os resultados obtidos por Martins e Casali, (2019) onde ele descreve que em seus experimentos alcançou halos de crescimento de até 36mm esse experimento corrobora para a eficácia do extrato da casca do fruto de *P. granatum L*¹⁹.

Já os estudos de Dahash e colaboradores (2021) apontam diretamente para a contribuição do extrato da romã (que é rico em ácido elágico) e contribui para inibir a resistência do *Staphylococcus aureus* à metilina. O autor ainda afirma que o extrato de romã apresenta atividade antibacteriana de forma sinérgica com a metilina ou de uso individual^{34, 35}.

Os produtos da romã também possuem um efeito sinérgico, contribuindo assim na cicatrização completa de úlceras na língua em um grupo de camundongos, e o chá da casca aplicado no local (bochechos) e a ingestão da polpa da *Punica granatum L.* se mostram eficazes no tratamento das infecções causadas nas línguas desses camundongos¹⁷.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados, permitiram concluir que a decocção da casca do fruto da Romã (*Punica granatum*), em estudo *in vitro*, apresentou atividade inibitória frente as bactérias gram-positiva *S. mitis* e *S. aureus*, residentes na cavidade oral e estão envolvidas em diferentes patologias. Podendo sugerir que o uso tópico da casca do decocto de romã pode contribuir na redução do uso de antibióticos pela população. Percebe-se através do estudo preliminar em disco de inibição que a romã é promissora, e que seu uso popular é justificável.

REFERÊNCIAS

- [1] MONTEIRO, S. C.; COSTA, C. L. Farmacobotânica: aspecto teórico e aplicação. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- [2] FERNANDES, Wagner Ramos. Avaliação da atividade antimicrobiana da planta *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). 2020.
- [3] LOUREIRO, Rui João et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de saúde pública**, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016.
- [4] OSTROSKY, Elissa A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 301-307, 2008.
- [5] AMPARO, Tatiane Roquete et al. Métodos para avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de plantas medicinais: a necessidade da padronização. **Infarma**, v. 30, n. 1, p. 50-9, 2018.
- [6] FERREIRA, J. B. et al. Activity assessment antimutagenic/mutagenic pomegranate (*punica granatum* L.) Through the in vivo test micronucleus. **Scientific Electronic Archives**, v. 10, n. 3, p. 76-82, 2017.
- [7] SILVA, Laís Kisy Costa et al. CAPÍTULO 2 A UTILIZAÇÃO DO EXTRATO DA ROMÃ (*Punica granatum*) E O SEU IMPACTO A NÍVEL VASCULOPROTETOR: UMA REVISÃO. **NUTRIÇÃO**, pág. 36, 2020.
- [8] ROCHA, Francisco Angelo Gurgel et al. O uso terapêutico da flora na história mundial. **Holos**, v. 1, p. 49-61, 2015.
- [9] SHAYGANNIA, Erfaneh et al. A review study on *Punica granatum* L. **Journal of evidence-based complementary & alternative medicine**, v. 21, n. 3, p. 221-227, 2016.
- [10] WU, Sheng; TIAN, Li. Diversos fitoquímicos e bioatividades na antiga fruta e moderno alimento funcional romã (*Punica granatum*). **Moléculas**, v. 22, n. 10, pág. 1606, 2017.
- [11] ALENCAR, Monyelle Yvine de Andrade et al. Investigação etnobotânica das plantas medicinais utilizadas para o tratamento de faringoamigdalite no CRAS de Cuité-PB. 2013.
- [12] FREITAS, Laura Christina et al. Physico-chemical characterization, phytochemistry and evaluation of the antimicrobial efficacy of an herbal

medicine gargle. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 50, n. 1, p. 253-268, 2021.

[13] IBGE, G. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Censo-2010**, 2007.

[14] DJABOU, N te al. Phytochemical composition of Corsican Teucrium essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxi-infectious pathogens. *Food Control*, v. 30, n. 1, p. 354-363, 2013.

[15] ABDOLLAHZADEH, SH et al. Atividades antibacterianas e antifúngicas de extratos de casca de Punica granatum contra patógenos orais. **Journal of Dentistry (Teerã, Irã)**, v. 8, n. 1, pág. 1, 2011.

[16] ASSAF, Areej M. et al. Antimicrobial and anti-inflammatory potential therapy for opportunistic microorganisms. **The journal of infection in developing countries**, v. 10, n. 05, p. 494-505, 2016.

[17] NASCIMENTO JÚNIOR, B. J. et al. Estudo da ação da romã (Punica granatum L.) na cicatrização de úlceras induzidas por queimadura em dorso de língua de ratos Wistar (Rattus norvegicus). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 18, p. 423-432, 2016.

[18] KHAN, Ilyas et al. Extratos da casca de Punica granatum: fracionamento por HPLC e análise por LC MS para buscar compostos com atividade contra bactérias multirresistentes. **BMC medicina complementar e alternativa**, v. 17, n. 1, pág. 1-6, 2017.

[19] MARTINS, Fabricio Wallace Pereira; CASALI, Agnes Kiensling. Atividade antimicrobiana in vitro de extratos etanólicos de Romã (Punica granatum, L.) sobre as bactérias Escherichia coli e Staphylococcus aureus. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 22970-22980, 2019.

[20] CUSSOLIN, Phylipe. Et al. "Mecanismos de resistência do *Staphylococcus aureus* a antibióticos". Disponível em: <https://rfs.emnuvens.com.br/rfs/article/view/120> Acesso em 17/10/2022. In: **Revista Faculdades do Saber**, 06 (12):831-843, 2021.

[21] DAHHAM, Saad Sabbar et al. Estudos sobre a atividade antibacteriana e antifúngica da romã (Punica granatum L.). **Sou. Eurasian J. Agric. Ambiente. Sei**, v. 9, n. 3, pág. 273-281, 2010.

[22] PINTO, B.B.; COSTA, D.R.M. Screening fitoquímico do fruto da romã (Punica granatum Linn.) Coletados no município de Maraba/PA. In: Simpósio nordestino de química. 2º Teresina-PI, 2016.

[23] CARVALHO, NM; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012.

[24] SANTOS, Jaqueline Nunes dos et al. QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE ROMÃ (*Punica granatum* L.) SOB MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO ARILO. 2019.

[25] CORDEIRO, Cícero Reis. AÇÃO ANTIBIÓTICA DA PRÓPOLIS SOBRE BACTÉRIAS DOS GÊNEROS STREPTOCOCCUS, STAPHYLOCOCCUS E BACILLUS CAUSADORAS DE INFECÇÃO NA GARGANTA. **Repositório de Trabalhos de Conclusão de Curso**, 2018.

[26] MATTHEWS, Derek; ADEGOKE, Oluwajoba; SHEPHARD, Adrian. Bactericidal activity of hexylresorcinol lozenges against oropharyngeal organisms associated with acute sore throat. **BMC research notes**, v. 13, n. 1, p. 1-4, 2020.

[27] BATHALA, S.; ECCLES, Ronald. A review on the mechanism of sore throat in tonsillitis. **The Journal of Laryngology & Otology**, v. 127, n. 3, p. 227-232, 2013.

[28] PEREIRA, J.V. et al. Estudos com o extrato da *Punica granatum* linn. (Romã): efeito antimicrobiano in vitro e avaliação clínica de um dentifrício sobre microrganismos do biofilme dental. *Rev. Odont. Ciên.*, v.20, n.49, p.262-269, 2005.

[29] LAMONT, Richard J.; KOO, Hyun; HAJISHENGALLIS, George. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. **Nature reviews microbiology**, v. 16, n. 12, p. 745-759, 2018.

[30] CAMPELO, Clarissa Sales de Paula. Influência do tempo de permanência hospitalar pré-operatória no perfil de resistência a antimicrobianos da microbiota oral de pacientes em hospital terciário. 2020.

[31] SAMARANAYAKE, Lakshman; MATSUBARA, Victor H. Normal oral flora and the oral ecosystem. **Dental Clinics**, v. 61, n. 2, p. 199-215, 2017.

[32] MARSH, P.; MARTIN, Michael V. *Microbiologia oral*. Boletín N, 2018.

[33] FREITAS, Laura Christina et al. Caracterização físico-química, fitoquímica e avaliação da eficácia antimicrobiana de um gargarejo fitoterápico. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, v. 50, n. 1, p. 253-268, 2021.

[34] ALRASHIDI, Amal. Et al. "A Time-Kill Assay Study on the Synergistic Bactericidal Activity of Pomegranate Rind Extract and Zn (II) against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*." In: **Biomolecules**. Dec 16;11(12):1889. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34944534/> Acesso em 17/10/2022.

[35] DAHASH, Salma. Et al. "Ellagic acid-rich Pomegranate extracts synergizes moxifloxacin against methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA)" In: **J Pak Med Assoc**. Dec;71(Suppl 8)(12):S88-S92,

2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35130226/> Acesso em 17/10/2022.