

Efeito antimicrobiano do extrato de *Plantago major* L. contra *Streptococcus mutans* relacionado à cárie dentária

Antimicrobial effect of *Plantago major* L. extract against *Streptococcus mutans* related to dental caries

Heide Mendonça Moreira de Souza¹

ORCID : 0000-0002-5728-4425

Ivana Barbosa Suffredini¹

ORCID: 0000-0002-5237-101X

Karen Cristina Comin Maldonado¹

ORCID: 009-0006-2110-1910

Cristina Lúcia Feijó Ortolani¹

ORCID: 000-001-6854-6606

¹ Universidade Paulista – UNIP. São Paulo, SP, Brasil.

Autor correspondente: Heide Mendonça Moreira de Souza - Rua Irmã Adelaide nº 116 – CEP 08381620 - Jardim Alto Alegre – São Paulo / SP. Email: heide.mendonca@gmail.com Contato: (11) 94283-5905

RESUMO

Objetivo: avaliar a eficácia do extrato de *Plantago major* L. contra *Streptococcus mutans*, bactéria associada à formação de biofilmes e ao desenvolvimento da cárie dentária, buscando alternativas naturais aos métodos convencionais de controle da cárie. **Método:** estudo experimental utilizando bioautografia e microdiluição em caldo para analisar a atividade antimicrobiana do extrato, com clorexidina como substância de comparação. **Resultados:** *Plantago major* apresentou halos de inibição consistentes com diâmetro médio de $12,5 \pm 1,2$ mm, comparado a $18,3 \pm 1,5$ mm da clorexidina, e análises estatísticas confirmaram sua eficácia ($p < 0,05$), evidenciando potencial como agente terapêutico natural. **Conclusão:** o extrato de *Plantago major* se mostrou promissor como alternativa no controle da cárie dentária, com menor risco de efeitos colaterais, incentivando a exploração de terapias fitoterápicas e subsidiando futuras pesquisas clínicas voltadas para a saúde bucal e o combate à resistência antimicrobiana.

Palavras-chave: *Streptococcus mutans*; Fitoterapia; Cárie Dentária.

ABSTRACT

Objective: to evaluate the efficacy of *Plantago major* L. extract against *Streptococcus mutans*, a bacterium associated with biofilm formation and the development of dental caries, seeking natural alternatives to conventional methods of caries control. **Method:** experimental study using bioautography and broth microdilution to analyze the antimicrobial activity of the extract, with chlorhexidine as a comparison substance. **Results:** *Plantago major* presented consistent inhibition halos with a mean diameter of 12.5 ± 1.2 mm, compared to 18.3 ± 1.5 mm for chlorhexidine, and statistical analyses confirmed its efficacy ($p < 0.05$), demonstrating its potential as a natural therapeutic agent. **Conclusion:** *Plantago major* extract showed promise as an alternative in the control of dental caries, with a lower risk of side effects, encouraging the exploration of phytotherapeutic therapies and supporting future clinical research focused on oral health and the fight against antimicrobial resistance.

Keywords: *Streptococcus mutans*; Phytotherapy; Dental Caries.

INTRODUÇÃO

A microbiota oral é composta por cerca de 700 espécies de procariontes, distribuídas em 185 gêneros e 12 filos, dos quais 54% possuem nome oficial, 14% são anônimos (cultiváveis) e 32% são conhecidos apenas como filotipos não cultiváveis¹. O desenvolvimento da cárie está associado a uma comunidade microbiana complexa que adere à superfície dos dentes, formando o biofilme dentário². Esse biofilme é um sistema multicamadas composto por bactérias, produtos bacterianos e saliva, em estado hidratado, com propriedades mecânicas e reológicas distintas³. Espécies do gênero *Streptococcus*, sobretudo *Streptococcus mutans* (*S. mutans*), são importantes na maturação do biofilme e na síntese de polissacarídeos extracelulares a partir da sacarose. Colonizadores primários clássicos como *Actinomyces* tornam-se predominante em biofilmes maduros, e baixos valores de pH contribuem para a desmineralização dental e o início de lesões de cárie⁴. Estudos indicam que *S. mutans* também promovem a adesão de outras bactérias nocivas⁵⁻⁶.

O controle da cárie dentária representa um desafio significativo para a saúde pública global, impactando a qualidade de vida e a produtividade. De acordo com a Organização Mundial da Saúde⁷, a cárie dentária afeta aproximadamente 60 a 90% das crianças em idade escolar e quase 100% dos adultos em todo o mundo⁸⁻¹⁰. Essa condição repercute na mastigação, no crescimento e no desenvolvimento, além de impactar no bem estar emocional. Além disso, pode levar à perda permanente do dente¹¹⁻¹².

A fase inicial da cárie dentária é caracterizada por lesões de manchas brancas. Nos últimos anos, tem-se notado um aumento da prevalência, com taxas variando entre 10% e 49%. Essas lesões são frequentemente encontradas em pacientes que realizaram tratamento ortodôntico e são causadas pelo acúmulo de placa bacteriana na região cervical dos dentes¹³⁻¹⁴. O uso de flúor em diversas formas continua sendo a base para a prevenção da cárie dentária. No entanto, os métodos atuais, como a adição de flúor à água de abastecimento, são considerados insuficientes. Portanto, abordagens adicionais tornam-se necessárias para melhorar a eficácia do tratamento¹⁵.

O biofilme dentário pode ser controlado mecanicamente, com práticas como escovação e uso do fio dental. Além disso, a abordagem química, utilizando principalmente substâncias como a clorexidina, tem sido extensivamente estudada

devido à sua ação antimicrobiana eficaz¹⁶. Embora a clorexidina seja considerada o padrão ouro para o controle bacteriano, seu uso prolongado pode produzir efeitos adversos, incluindo alterações no paladar (disgeusia), manchas nos dentes e, em casos raros, reações alérgicas¹⁷⁻¹⁹. Além disso, a resistência bacteriana à clorexidina é uma preocupação crescente, destacando a necessidade de explorar alternativas seguras e eficazes²⁰. Neste contexto, os fitoterápicos surgiram como alternativas promissoras para o controle do biofilme dentário e prevenção da cárie dentária. Eles oferecem vantagens como menor toxicidade, custos reduzidos e fácil acessibilidade²¹⁻²⁴.

Dentre as plantas medicinais estudadas, *Plantago major* L. (Plantaginaceae), popularmente conhecida como tanchagem, tem chamado a atenção por suas propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias e antioxidantes²⁵. *Plantago major* L. (*P. major*) é uma planta conhecida por sua abundância de compostos bioativos, incluindo flavonóides, terpenoides, glicosídeos iridóides e ácidos graxos²⁶. Esses compostos conferem à planta propriedades anti-inflamatórias, cicatrizantes e antioxidantes, além de uma significativa atividade antibacteriana. Estudos indicaram que a aucubigenina, derivada de glicosídeos iridóides e presente na tanchagem, exibiu atividade antibacteriana, especialmente contra microrganismos gram-positivos, como *Streptococcus mutans*²⁷⁻²⁸.

O presente estudo tem como objetivo avaliar a eficácia do extrato de *Plantago major* L. como agente antimicrobiano contra *Streptococcus mutans*, partindo da hipótese de que esse extrato possa inibir significativamente o crescimento dessa bactéria e pode servir como alternativa eficaz na prevenção da cárie dentária. Este trabalho contribui para o campo emergente da fitoterapia na prevenção e controle do biofilme dentário, fornecendo dados valiosos para a odontologia contemporânea.

MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo *in vitro* para avaliação da atividade antimicrobiana de extratos aquoso e etanólico de *Plantago major* L., realizado no Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade (NPBio) da Universidade Paulista (UNIP), São Paulo, Brasil.

O extrato de *Plantago major* L. (Plantaginaceae), obtido de órgãos aéreos, foi adquirido da Heide Extratos Vegetais, Pinhais, Estado do Paraná, Brasil (lote 2168,

fabricado em 27/04/2023, validade até 05/2025, controle de qualidade nº. 84929-431). Por outro lado, soluções de gluconato de clorexidina 1% e 0,12%, fornecidas pela Fórmula & Ação, São Paulo-SP, Brasil (fabricado em 15/10/2023, validade até 10/2025) foram utilizados como controles positivos.

Preparação do Inóculo Bacteriano

A cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) foi previamente descongelada e cultivada em ágar *Brain Heart Infusion* (BHI) (Oxoid®). Uma suspensão bacteriana foi preparada em solução salina a 0,9%, e a concentração foi ajustada para $1,5 \times 10^8$ UFC/mL para o teste piloto e experimento 01, conforme descrito por Suffredini et al. (2004)²⁹ e adaptado para este, $1,5 \times 10^7$ UFC/mL para o experimento 02 e $1,5 \times 10^6$ UFC/mL para o experimento 03. As concentrações foram determinadas por contagem de colônias viáveis por diluições seriadas ou por turbidez ajustada à escala de MacFarland.

Subculturas foram geradas a partir de duas placas-mestre, cada uma contendo 100 µL de cultura bacteriana descongelada. Essas subculturas foram transferidas para placas de Petri contendo ágar Oxoid® CM1136 BHI e incubadas a 36°C por 48 horas, conforme descrito por Wagner et al. (1996)³⁰ e adaptado para este estudo. Uma suspensão bacteriana foi preparada a partir dessas subculturas por meio de diluições seriadas em sete tubos com 9 mL de solução salina cada. Após a incubação, as colônias foram contadas, e a contagem média foi utilizada para ajustar a concentração da suspensão bacteriana de acordo com a escala de MacFarland (0,5 MacFarland).

Determinação da concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima

O método de microdiluição em caldo foi utilizado para determinar as concentrações inibitórias mínimas e as concentrações bactericidas mínimas do extrato e controles. As suspensões bacterianas foram incubadas em caldo BHI com diferentes concentrações dos agentes testados, por 48 horas a 36°C, em seguida foi avaliada a turbidez e realizada subcultivo. A partir de colônias de *Streptococcus mutans*, foi preparada uma suspensão bacteriana em caldo BHI. Para o experimento 02, utilizou-se a suspensão com concentração de $1,5 \times 10^7$ UFC/mL. Em uma microplaca de 96 poços com fundo em U, foram adicionados 190 µL dessa suspensão em cada poço.

Em seguida, foram adicionados 40 μ L de extrato vegetal ou clorexidina, nas concentrações de 1% e 0,12%, conforme estabelecido na literatura odontológica³¹. O extrato de *P. major* foi testado em concentrações que variaram de 40 mg/mL até 0,3125 mg/mL, conforme base preliminar descrita por Wagner et al. (1996)²⁸, que identificaram atividade antimicrobiana significativa do extrato vegetal a partir dessa concentração inicial. Seis poços foram reservados para controle negativo (apenas meio de cultura) e outros seis para controle positivo (meio de cultura com *S. mutans*), conforme recomendações metodológicas, conforme descrito por Camargo et al. (2014)³².

As microplacas foram incubadas por 48 horas a 36°C. Após esse período, foi avaliada visualmente a presença ou ausência de turbidez em cada poço, como indicativo do crescimento bacteriano. Em seguida, foi realizado o subcultivo; 2 μ L do sobrenadante de cada poço foram inoculados em placas de Petri contendo ágar BHI estéril, com incubação a 36°C por 48 horas para confirmação da viabilidade bacteriana conforme descrito por Bella et al. (2022)³³.

Bioautografia

Difusão em bioautografia (DiB)

A capacidade do extrato de *Plantago major* em inibir o crescimento bacteriano também foi avaliada por meio do método de difusão em bioautografia (DiB), que combina cromatografia em camada delgada com o teste de disco-difusão. Todo o experimento foi realizado em triplicata, tanto para o extrato vegetal quanto para o controle positivo (clorexidina a 1%), utilizando placas de cromatografia em sílica gel GF254 com base de alumínio e dimensões de 5 \times 5 cm.

As amostras foram aplicadas na forma de 10 μ L de extrato de *P. major* (concentração de 40 mg/mL) ou 10 μ L de clorexidina 1%, como controle positivo. Os cromatogramas foram colocados em placas de Petri de 90 mm contendo 5 mL de ágar BHI previamente inoculado com *Streptococcus mutans* ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) para o experimento 01 e com $1,5 \times 10^7$ UFC/mL para o experimento 02. Após a gelificação do meio, adicionaram-se mais 10 mL de ágar BHI inoculado com a mesma concentração de inóculo ($1,5 \times 10^7$ UFC/mL), formando uma camada superior sobre os cromatogramas.

O extrato vegetal ou controles positivos foram distribuídos em volumes de 10 µL. Os cromatogramas foram colocados em placas de Petri de 90 mm com 5 mL de meio ágar BHI previamente inoculado com $1,5 \times 10^8$ UFC/mL de *S. mutans* para o experimento 01, e $1,5 \times 10^7$ UFC/mL de *S. mutans* para o experimento 02. Após a gelificação, as placas de sílica foram organizadas e foram adicionados mais 10 mL de meio ágar BHI, previamente inoculado com $1,5 \times 10^7$ UFC/mL de *S. mutans*, para o experimento 02.

As placas foram incubadas por 48 horas a 36 °C. Após o período de incubação, foi adicionado aproximadamente 0,5 mL de corante de viabilidade MTT (sal de tetrazólio, 0,5 mg/mL) para a visualização das zonas de inibição, que se apresentaram como áreas claras na matriz corada. As zonas de inibição foram mensuradas com auxílio de paquímetro digital, em duas direções (horizontal e vertical), e os valores foram registrados em milímetros para análise estatística subsequente.

A análise estatística baseou-se nos diâmetros das zonas de inibição determinadas pelo ensaio de difusão em bioautografia (DiB), bem como nas concentrações bactericidas mínimas (CBM).

Para a comparação entre os grupos tratados com clorexidina a 1% e extrato de *Plantago major*, foi utilizado o teste t de Student para amostras independentes. O número total de amostras analisadas foi 54, sendo 30 para clorexidina 1% e 24 para o extrato de *P. major*. Essas amostras referem-se ao experimento de difusão em bioautografia (DiB).

Cada experimento foi conduzido separadamente, com tamanho amostral de $n = 15$ para cada grupo. Para cada tratamento, foram utilizados três discos impregnados, e cada disco originou duas medições (horizontal e vertical), totalizando seis medidas por grupo experimental.

Os dados das zonas de inibição foram submetidos à verificação da distribuição de normalidade por meio dos testes de Shapiro–Wilk. A identificação de *outliers* foi realizada pelo teste ROUT ($Q = 5\%$).

A escolha do teste estatístico foi baseada na distribuição dos dados: quando os dados apresentaram distribuição normal, utilizou-se ANOVA unidirecional com *post-*

hoc de Tukey; em casos de distribuição não normal, aplicou-se o teste de Kruskal–Wallis com *post-hoc* de Dunn. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

As análises foram realizadas no software GraphPad Prism[®], versão 10.1.2.324. A relação entre os métodos de DDA (disco difusão em ágar) e DiB também foi explorada com base nos diâmetros médios das zonas de inibição.

RESULTADOS

O presente estudo adotou uma abordagem *in vitro* para avaliar a atividade antibacteriana dos extratos fluido e etanólico de *Plantago major* em diferentes concentrações e volumes, com foco na resposta contra a cepa padronizada de *Streptococcus mutans* ($1,5 \times 10^7$ UFC/mL). Os resultados obtidos são apresentados a seguir.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima e da Concentração Bactericida Mínima

A determinação da concentração inibitória mínima (MIC) foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, conforme descrito na metodologia. A MIC é a menor concentração do agente antimicrobiano capaz de interromper o crescimento do microrganismo, refletindo sua capacidade bacteriostática³⁴. Para a cepa de *S. mutans* a $1,5 \times 10^7$ UFC/mL, a MIC do extrato foi de 25 mg/mL. Esse resultado indica que, mesmo nas diluições mais altas testadas, o extrato manteve seu efeito inibitório contra a bactéria.

Os testes em microplacas de 96 poços confirmaram a eficácia do extrato de *P. major* na inibição do crescimento de *S. mutans*, com MIC estabelecida em 25 mg/mL. Apesar da diluição de 20 vezes na técnica de microdiluição, o extrato demonstrou atividade antimicrobiana sustentada, reforçando a importância da interação entre seus componentes químicos para essa eficácia. Embora a MIC tenha sido determinada, a concentração bactericida mínima (MBC) não pôde ser estabelecida com as concentrações testadas: mesmo na maior concentração de 40 mg/mL não ocorreu morte do microrganismo. Após subcultivo, observou-se crescimento microbiano em todas as

diluições, sugerindo efeito bacteriostático, mas não bactericida, nas condições do estudo.

Análise e Resultados da Atividade Antibacteriana por Bioautografia

A técnica de difusão por bioautografia foi utilizada para medir as zonas de inibição formadas por tratamentos com *P. major* e clorexidina (CHX) contra *S. mutans*. Os resultados estão apresentados nas Figuras 1A, 1B e 1C os demais resultados, incluindo a análise estatística por ANOVA unidirecional e teste post-hoc de Tukey, estão exibidos nas tabelas subsequentes

Figura 1 mostra os halos de inibição formados por clorexidina e *P. major*. No teste de bioautografia.

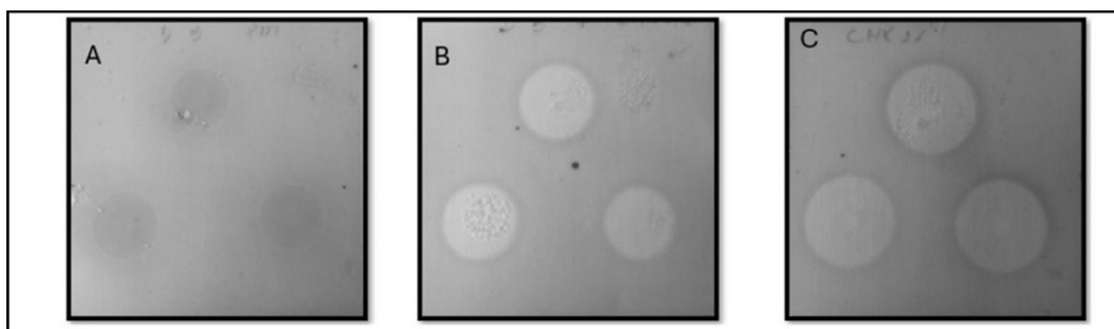


Figura 1 - Zonas de inibição observadas no ensaio de bioautografia contra *Streptococcus mutans* comparando o extrato de *Plantago major* L. e soluções de clorexidina L. (A) Halos de inibição formados pelo extrato de *P. major*; (B) Halos de inibição formados pela clorexidina 0,12%; (C) Halos de inibição formados pela clorexidina 1%. Fonte: Souza HMM. et al., 2024 – São Paulo/SP – Brasil

A Figura 2 mostra os resultados da ANOVA unidirecional e do teste de Tukey para a atividade antimicrobiana das substâncias testadas usando $1,5 \times 10^7$ UFC/mL. O gráfico de barras apresenta as médias das zonas de inibição para tratamentos com *P. major*, clorexidina 0,12% (CHX 0,12%) e clorexidina 1% (CHX 1%), com o erro padrão da média (SEM) indicado pelas barras de erro. Diferenças significativas entre os tratamentos são apontadas pelos valores de *p* acima das barras, demonstrando *p* ajustado = 0,0001. Os valores descritivos para os grupos são:

- CHX 1%: $14,98 \pm 0,22$ mm
- CHX 0,12%: $12,35 \pm 0,31$ mm
- *P. major*: $9,95 \pm 0,41$ mm

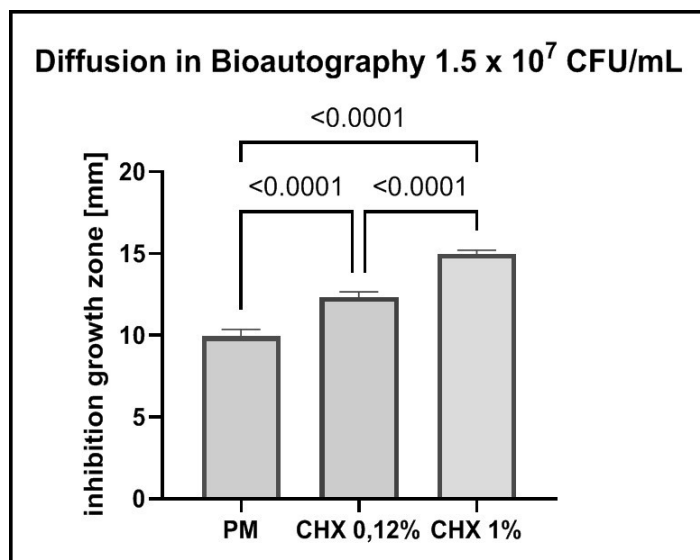


Figura 2 – Resultados da ANOVA unidirecional e do Teste de Tukey para a atividade antimicrobiana das substâncias testadas.
Fonte: Souza HMM. et al., 2024 – São Paulo/SP – Brasil.

A Tabela 1 apresenta as médias, desvios-padrão, erros-padrão e intervalos de confiança de 95% (IC 95%) das zonas de inibição observadas para os tratamentos com *Plantago major*, clorexidina 0,12% (CHX 0,12%) e clorexidina 1% (CHX 1%). Observa-se que a clorexidina 1% apresentou a maior inibição média (14,98 mm), seguida pela clorexidina 0,12% (12,35 mm) e *Plantago major* (9,95 mm). Os valores de IC 95% mostram uma faixa relativamente estreita para todos os grupos, indicando alta precisão nos resultados obtidos. A Tabela 2 demonstra que todas as comparações múltiplas de Tukey entre os grupos foram estatisticamente significativas ($p < 0,0001$). As diferenças mais pronunciadas foram observadas entre PM e CHX 1% (-5,028), seguidas por PM e CHX 0,12% (-2,398). Os intervalos de confiança de 95% não ultrapassam zero, corroborando a significância estatística dos resultados.

Tabela1. Médias e Erros Padrão das Zonas de Inibição para Tratamentos com Plantago major e Clorexidina. São Paulo, Brasil, 2024.

| Grupos | N | Média | Desvio | Erro | 95% CI | 95% CI |
|-----------|----|-------|--------|--------|--------|----------|
| | | | Padrão | Padrão | Baixo | Superior |
| P major | 12 | 9,95 | 0,40 | 0,11 | 9,69 | 10,21 |
| CHX 0,12% | 12 | 12,35 | 0,31 | 0,09 | 12,15 | 12,55 |
| CHX 1% | 6 | 14,98 | 0,22 | 0,09 | 14,74 | 15,21 |

Tabela 2. Resultados do Teste de Comparações Múltiplas de Tukey post-hoc após ANOVA unidirecional para as zonas de inibição (mm). n = 12 para *P. major* e CHX 0,12%; n = 6 para CHX 1%, obtidas em São Paulo, Brasil, 2024

| Comparação | Média | 95% CI | p-valor | Significância |
|------------------------------|--------|-----------------|---------|---------------|
| <i>P. major</i> vs CHX 0,12% | -2,398 | -2,744 a -2,053 | <0,0001 | **** |
| <i>P. major</i> vs CHX 1% | -5,028 | -5,452 a -4,605 | <0,0001 | **** |
| CHX 0,12% vs CHX 1% | -2,63 | -3,053 a -2,207 | <0,0001 | **** |

(****) = significância muito alta

Resultados Estatísticos da Análise de Bioautografia (DiB)

A análise estatística foi expressa por médias, intervalos de confiança de 95% e valores de *p* ajustados pelo teste de Tukey para as amostras de *P. major*, CHX 0,12% e CHX 1%. Para avaliar a normalidade dos dados, foram realizados:

- Teste de Shapiro–Wilk ($W = 0,9332$; $0,9516$; $0,8788$ para *P. major*, CHX 0,12% e CHX 1%, respectivamente; $p = 0,415$; $0,6602$; $0,2638$) – todos os grupos passaram no critério de $\alpha = 0,05$.
- Teste de Kolmogorov–Smirnov ($KS = 0,1478$; $0,1458$; $0,2361$; $p > 0,10$) – confirmando a normalidade.
- Análise de *outliers* pelo método ROUT ($Q = 5\%$) não identificou valores discrepantes.

A ANOVA revelou diferença significativa entre as médias ($F(2,27) = 449,8$; $p < 0,0001$), com $R^2 = 0,9709$, indicando alta variabilidade explicada pelo modelo. Os testes de Brown–Forsythe e Bartlett não detectaram diferenças nos desvios-padrão entre os grupos. O teste de Tukey indicou diferenças significativas em todas as comparações (*P. major* vs. CHX 0,12%; *P. major* vs. CHX 1%; CHX 0,12% vs. CHX 1%) com p ajustado $< 0,0001$.

Os resultados estatísticos da análise de bioautografia evidenciam *insights* valiosos sobre a atividade antibacteriana do extrato de *Plantago major* em comparação com clorexidina 0,12% e 1%. Apesar de estudos na literatura relatarem maior eficácia da clorexidina, estes achados reforçam a necessidade de agentes naturais capazes de mitigar os efeitos colaterais dos antimicrobianos convencionais³⁶⁻³⁷. A média de inibição dos halos foi de 9,95 mm para *P. major*, destacando seu potencial como fonte de compostos antibacterianos.

DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do extrato de *Plantago major* na atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* e sua capacidade de modificar o biofilme dentário, um dos principais fatores associados ao desenvolvimento da cárie dentária. Os resultados indicam que o extrato de *P. major* demonstrou atividade antimicrobiana significativa, reduzindo a formação de biofilme e a colonização por *S. mutans*. Esse achado está em concordância com Shirkey et al. (2017)²¹, que relataram atividade antimicrobiana de plantas como *P. major* contra patógenos orais, incluindo *S. mutans*. De forma semelhante, Nogueira et al. (2021)³⁵ observaram efeitos promissores

de fármacos fitoterápicos na prevenção de doenças orais, reforçando a eficácia de compostos naturais como alternativas terapêuticas no controle de biofilmes orais.

Em comparação com os estudos de Sterzenbach et al. (2020)³, que discutem estratégias para prevenção de biofilme, o uso do extrato de *P. major* apresenta uma alternativa interessante aos antimicrobianos tradicionais. Embora métodos convencionais, como o uso de clorexidina, sejam eficazes na redução do biofilme, Fiorillo (2019)¹⁹ relatou que o uso prolongado de clorexidina pode levar à resistência bacteriana e a efeitos colaterais, como alterações no paladar. Nesse contexto, os resultados do presente estudo sugerem que o extrato de *P. major* poderia oferecer uma opção menos invasiva e com menor risco de desenvolvimento de resistência, conforme já apontado por Solderer et al. (2019)¹⁷ que sugerem que fitoterápicos podem ser mais seguros em termos de efeitos adversos.

Além disso, ao comparar os resultados com o estudo de Barbosa et al. (2016)⁶, que investigou a interação entre *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* no biofilme dentário, observa-se que o extrato de *P. major* tem potencial para inibir a colonização de *S. mutans* de forma mais eficiente do que alguns tratamentos convencionais. Barbosa et al. (2016)⁶ identificaram que a interação entre essas duas espécies microbianas é crucial para o aumento da virulência e da formação de biofilme, e que controlar *S. mutans* pode reduzir significativamente o risco de cárie dentária.

Entretanto, a eficácia de *Plantago major* na redução da cárie dentária, conforme observado no estudo de Tefera et al. (2022)¹¹, que discute fatores dietéticos e microbiológicos associados à cárie, ainda requer mais evidências clínicas. Embora extratos naturais como o de *P. major* tenham demonstrado eficácia em modelos de laboratório, a aplicabilidade clínica e a comparação com tratamentos tradicionais ainda são áreas em desenvolvimento. O estudo de Tefera et al. (2022)¹¹ indicou que, apesar das alternativas naturais, a cárie permanece uma doença altamente prevalente, especialmente em populações com hábitos alimentares inadequados, o que pode influenciar diretamente o sucesso de qualquer tipo de tratamento, seja convencional ou fitoterápico.

A comparação entre os resultados do presente estudo e as referências disponíveis revela que o uso de *Plantago major* como tratamento alternativo para o controle da cárie

dentária e a modulação do biofilme oral tem grande potencial terapêutico. Embora os estudos de Sterzenbach et al. (2020)³ e Fiorillo (2019)¹⁹ apoiem o uso de substâncias antimicrobianas convencionais, as evidências indicam que fitoterápicos oferecem uma abordagem mais natural e potencialmente mais segura. No entanto, são necessários mais estudos clínicos para confirmar a eficácia e a segurança em longo prazo desses compostos, especialmente em comparação com tratamentos tradicionais.

Diversos estudos relataram o potencial antimicrobiano do extrato de *Plantago major* em concentrações variadas contra diferentes microrganismos^{21, 26, 36}, confirmando sua utilidade no combate a infecções bacterianas. Entretanto, a falta de padronização entre técnicas, microrganismos, concentrações de inóculo e características dos extratos ainda representa um desafio para a comparação de resultados. A literatura científica indica que a clorexidina permanece mais eficaz, mas os extratos de *P. major* oferecem uma alternativa promissora, especialmente no contexto do aumento da resistência microbiana.

Em um cenário de resistência microbiana global, os resultados deste estudo destacam *Plantago major* como fonte potencial de compostos antimicrobianos, apresentando vantagens sobre agentes convencionais como a clorexidina, que pode provocar efeitos colaterais. Pesquisas contínuas com *P. major* podem abrir novas possibilidades para o desenvolvimento de agentes terapêuticos naturais e seguros no tratamento de infecções bacterianas.

CONCLUSÃO

O extrato de *Plantago major* L. demonstrou atividade antimicrobiana significativa contra *Streptococcus mutans*, indicando seu potencial como alternativa natural ao controle do biofilme dentário e à prevenção da cárie dentária. Além disso, apresentou menor risco de efeitos colaterais em comparação com a clorexidina, reforçando o interesse em terapias fitoterápicas. Este estudo contribui para a base científica de futuras aplicações clínicas do extrato de *P. major* na saúde bucal.

REFERÊNCIAS

1. Deo PN, Deshmukh R. Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. J Oral Maxillofac Pathol. 2019;23(1):122-28. doi: [10.4103/jomfp.JOMFP_304_18](https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_304_18)
2. Marsh PD, Zaura E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. J Clin Periodontol. 2017;44(18):12-22. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12679>
3. Sterzenbach T, Helbig R, Hannig C, Hannig M. Bioadhesion in the oral cavity and approaches for biofilm management by surface modifications. Clin Oral Investig. 2020 Dec;24(12):4237-4260. doi: 10.1007/s00784-020-03646-1. Epub 2020 Oct 27. PMID: 33111157; PMCID: PMC7666681.
4. Ben-Zaken H, et al. Isolation and Characterization of *Streptococcus mutans* Phage as a Possible Treatment Agent for Caries. Viruses. 2021 May 2;13(5):825. <https://doi.org/10.3390/v13050825>
5. Boyd JDAJ, Stromberg CS, Miller ME, Grady. Biofilm and cell adhesion strength on dental implant surfaces via the laser spallation technique. Dent Mater. 2021;37:48-59. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2020.10.013>
6. Barbosa JO, Rossoni RD, Vilela SF, De Alvarenga JA, Velloso MDOS, Prata MC, et al. *Streptococcus mutans* can modulate biofilm formation and attenuate the virulence of *Candida albicans*. PLoS One. 2016;11(3):e0150457. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150457>
7. World Health Organization. Global oral health status report: towards universal health coverage for oral health by 2030 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2022 [cited yearmonth day]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240061483>.
8. Azeredo FN, Guimarães LS, Luís W, Fialho S, Antunes LAA, Antunes LS. Estimated prevalence of dental caries in athletes: na epidemiological systematic review

and meta-analysis. J Indian SocPedod Prev Dent. 2020;38(2):297.
DOI: 10.4103/ijdr.IJDR_764_18

9. Tafere Y, Chanie S, Dessie T, Gedamu H. Avaliação da prevalência de cárie dentária e fatores associados em pacientes atendidos na clínica odontológica do hospital geral DebreTabor: um estudo transversal de base hospitalar. BMC Oral Health. 2018;18(1):1-7. <http://doi.org/10.1186/s12903-018-0581-8>

10. Wang Y, Xing L, Yu H, Zhao L. Prevalência de cárie dentária em crianças e adolescentes com diabetes tipo 1: revisão sistemática e metanálise. BMC Oral Health. 2019;19(1):1-9. <http://doi.org/10.1186/s12903-019-0903-5>

11. Tefera AT, Girma B, Adane A, Muche A, Ayele TA, Getahun KA, Aniley Z, Ali S, Handebo S. The prevalence of dental caries and associated factors among students living with disability in the Amhararegion, Ethiopia. Clin Exp Dent Res. 2022 Dec;8(6):1505-1515. doi: 10.1002/cre2.646. Epub 2022 Aug 15. PMID: 35971194; PMCID: PMC9760154.

12. Kudsi Z, et al. Developing a questionnaire to measure psychological disturbance associated with toothloss. J Dent. 2020; 98:103353. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2020.103353>

13. Ando M, Shaikh S, Eckert G. Determination of Caries Lesion Activity: Reflection and Roughness for Characterization of Caries Progression. Oper Dent. 2018 May/Jun;43(3):301-306. doi: 10.2341/16-236-L. PMID: 29676973.

14. Guerra F, Mazur M, Corridore D, Pasqualotto D, Nardi GM, Ottolenghi L. Evaluation of the esthetic properties of developmental defects of enamel: a spectrophotometric clinical study. ScientificWorldJournal. 2015; 2015:878235. doi: 10.1155/2015/878235. Epub 2015 Mar 22. PMID: 25874260; PMCID: PMC4385663.

15. Cury JA, de Oliveira BH, dos Santos AP, Tenuta LM. Are dental fluoride releasing materials clinically effective on caries control? Dent Mater. 2016;32(3):323-33. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.12.002>

16. Stefanello R, de Souza FHC, de Castro GD. Efeitos do extrato de própolis e do óleo de melaleuca na formação do biofilme e na desmineralização dental: estudo in situ. Rev Fac Odontol UPF. 2017;22(1). <https://doi.org/10.5335/rfo.v22i1.6588>
17. Solderer A, Kaufmann M, Hofer D, Wiedemeier D, Attin T, Schmidlin PR. Efficacy of chlorhexidine rinses after periodontal or implant surgery: a systematic review. Clin Oral Investig. 2019;23:21-32.<https://doi.org/10.1007/s00784-018-2761-y>
18. Tartaglia GM, Sidhu SK, La Torre G, Al-Khelaiwi F, Loe H, Martin MD. Adverse events associated with home use of mouth rinses: a systematic review. TherAdvDrugSaf. 2019;<https://doi.org/10.2042098619854881>.
19. Fiorillo L. Chlorhexidine gel use in the oral district: A systematic review. Gels. 2019;5(2):31.<https://doi.org/10.3390/gels5020031>
20. Chen S, et al. Preoperative antisepsis with chlorhexidine versus povidone-iodine for the prevention of surgical site infection: a systematic review and meta-analysis. World J Surg. 2020;44:1412-1424.<https://doi.org/10.1007/s00268-020-05384-7>
21. Shirley KP, et al. In vitro effects of *Plantago major* extract, aucubin, and baicalein on *Candida albicans* biofilmformation, metabolic activity, and cell surface hydrophobicity. J Prosthodont. 2017;26(6):508-515. <https://doi.org/10.1111/jopr.12411>
22. Goes VN, et al. Aplicabilidade do alecrim (*Rosmarinus officinalis*) como potencial fitoterápico na Odontologia: uma revisão da literatura. Res Soc Dev. 2020;9(7):e645974767-e645974767.DOI: 10.33448/rsd-v9i7.4767.
23. Silva JMD, Verçosa BMG, Nobre FC, Azevedo L de M, Silva MLT, Belo ZS, Cota ALS. Utilization of phytotherapies in Dentistry: integrative review. Res Soc Dev. 2020;9(8):e209985370. doi: 10.33448/rsd-v9i8.5370. Available from: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/5370>.

24. Montenegro SB, Araújo TP, Padilha WWN. O uso de plantas medicinais na odontologia brasileira [The use of medicinal plants in Brazilian dentistry]. *RevInicCient Odontol.* 2019;17(4):29-36. DOI: 10.4034/RevICO.2019.17.4.3
25. Valverde B, Carolina V. Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*Matricaria Chamomilla*), extracto de llantén (*Plantago major* L.) y La combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con La clorhexidina sobre cepa de *Porphyromonadingivalis*. Trabalho de Conclusão de Curso. Quito: UCE; 2017. <https://fi-admin.bvsalud.org/document/view/bk88z>
26. Iwanycki Ahlstrand N, et al. Untargeted metabolic profiling reveals geography as the strongest predictor of metabolic phenotypes of a cosmopolitan weed. *Ecology and Evolution.* 2018;8(13):6812-6826. <https://doi.org/10.1002/ece3.4195>
27. Acosta-Quiroz J, et al. Efectoinhibitorio, in vitro del extracto etanólico de *Plantago Major* “Llantén” frente a cepas de *staphylococcus aureus* y *streptococcus β -hemolíticos*. *Med Natur.* 2019; 13(2):7-11. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6985215>
28. Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *J Ethnopharmacol.* 2000 Jul;71(1-2):1-21. doi: 10.1016/S0378-8741(00)00212-9. PMID: 10904143; PMCID: PMC7142308. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00212-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00212-9)
29. Suffredini IB, Sader HS, Gonçalves AG, Reis AO, Gales AC, Varella AD, et al. Triagem de extratos ativos antibacterianos obtidos de plantas nativas da Floresta Amazônica brasileira e da Mata Atlântica. *Braz J Med Biol Res.* 2004;37(3):379–384. doi:10.1590/S0100-879X2004000300015
30. Wagner H. Drugs containing sweet-tasting terpeneglycosides. In: Sabine B, ed. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*, 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag; 1996:329–332. DOI https://doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9_16

31. Malateaux G, Salazar-Gamarra R, de Souza Silva J, Gallego Arias Pecorari V, Suffredini IB, Dib LL. Ultraviolet C as a method of disinfecting medical silicone used in facial prostheses: An in vitro study. *J Prosthet Dent*. 2021 Sep;126(3):452.e1-452.e6. doi: 10.1016/j.prosdent.2021.06.036. Epub 2021 Jul 20. PMID: 34301417.
32. Camargo LRP, Suffredini IB. Anti-*Escherichia coli* activity of Brazilian plant extracts: New trends in Veterinary research. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2014;66:617-620. DOI:10.1590/1678-41626072
33. Bella APGSN, Tuzita AS, Suffredini IB, Kojima AN, Giovani EM, Mesquita AMM. Bacterial infiltration and detorque at the implant abutment morse taper interface after masticatory simulation. *Sci Rep*. 2022 Oct 12;12(1):17103. doi: 10.1038/s41598-022-20915-z. PMID: 36224228; PMCID: PMC9556662.
34. De Jesus Domingues J, et al. Uso de fitoterápicos e demais componentes vegetais e minerais na fabricação de produtos odontológicos naturais: Revisão de literatura. *Res Soc Dev*. 2021;10(3):e576 DOI:10313678-e57610313678.
35. Nogueira MLO, Lima LM, Lemos ASO, Diogo MA, Souza TF, Silva JPS, Silva Filho AA, Chedier LM, Fabri RL, Pinto PF. *Plantago major* L. (Plantaginaceae) pode ser utilizado como agente antimicrobiano para emprego em produtos para uso oral? *Rev Fitos*. 2021;15(3):354-365. <https://doi.org/10.32712/2446-4775.2021.1005>
36. Gomez-F, Ricardo et al. Immunoenhancing properties of *Plantago major* leaf extract. *Phytotherapy Research: Na International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, v. 14, n. 8, p. 617-622, 2000. <https://doi.org/10.1002/1099-1573>