

**Revista Saúde.Com**

ISSN 1809-0761

www.uesb.br/revista/rsc/ojs

**AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Maytenus truncata* Reiss FRENTE A ESTREPTOCOCOS DO GRUPO MUTANS****EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Maytenus truncata* Reiss AGAINST MUTANS GROUP STREPTOCOCCI****Gabriel Magalhães Cairo<sup>3</sup>, Lorena Andrade Nunes<sup>1</sup>, Lorena de Sousa Rosa<sup>1</sup>, Izadora Dias Costa<sup>1</sup>, Lorena Estefanie Andrade Gonçalves<sup>3</sup>, Vanessa Meira Maia<sup>3</sup>, Thaíssa Tranzilo Braga<sup>2</sup>, Elaine Martins Pinto Cayres<sup>3</sup>, Cezar Augusto Casotti<sup>3</sup>.**Centro Universitário de Excelência - UNEX<sup>1</sup>, Escola de Saúde Pública da Bahia – ESPBA<sup>2</sup>, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB<sup>3</sup>**Abstract**

There is great interest in investigating the medicinal properties of plants, such as *Maytenus truncata* Reiss, known for several therapeutic properties, including antimicrobial properties. In this way, we aimed to investigate the antimicrobial activity of *M. truncata* Reiss extract against mutans streptococci in the treatment and prevention of dental caries. Leaves of *M. truncata* were collected, obtaining an ethanolic extract of 50 g/L, diluted at concentrations 1, 8, 16 and 32 g/L. A clinical strain of mutans streptococci was isolated from saliva. Microbiological tests and spectrophotometric analyzes were performed to evaluate antimicrobial activity. *M. truncata* extracts, at a concentration of 1 g/L, demonstrated an antimicrobial effect against the mutans streptococcal strain. Spectrophotometric analyzes indicated a significant reduction in bacterial growth with the use of extracts at concentrations of 8, 16 and 32 g/L compared to controls. The results suggest that *M. truncata* has inhibitory properties against mutans streptococci, indicating therapeutic potential for the complementary or alternative treatment of dental caries. However, additional studies are needed to identify specific bioactive compounds, investigations in *in vivo* models and clinical trials to validate their safety and efficacy.

**Keywords:** *Maytenus truncata*; *Streptococcus mutans*; Antimicrobial activity.**Resumo**

Há grande interesse na investigação das propriedades medicinais de plantas, a exemplo da *Maytenus truncata* Reiss, conhecida por diversas propriedades terapêuticas, dentre elas a atividade antimicrobiana. Desta maneira, objetivamos investigar a atividade antimicrobiana do extrato de *M. truncata* Reiss contra estreptococos do grupo mutans no tratamento e prevenção da cárie dentária. Foram coletadas folhas de *M. truncata*, obtendo-se um extrato etanólico de 50 g/L, diluído nas concentrações 1, 8, 16 e 32 g/L. Uma cepa clínica de estreptococos do grupo mutans foi isolada da saliva. Testes microbiológicos e análises espectrofotométricas foram realizadas para avaliar a atividade antimicrobiana. Os extratos de *M. truncata*, na concentração de 1 g/L, demonstraram efeito antimicrobiano contra a cepa de estreptococos do grupo mutans. Análises espectrofotométricas indicaram redução significativa no crescimento bacteriano com o uso dos extratos nas concentrações de 8, 16 e 32 g/L em comparação com controles. Os resultados sugerem que *M. truncata* possui propriedades inibitórias contra estreptococos do grupo mutans, indicando potencial terapêutico para o tratamento complementar ou alternativo da cárie dentária. Porém, são necessários estudos adicionais para identificar compostos bioativos específicos, investigações em modelos *in vivo* e ensaios clínicos para validar sua segurança e eficácia.

**Palavras-chave:** *Maytenus truncata*; *Streptococcus mutans*; Atividade Antimicrobiana.

## Introdução

O corpo humano é naturalmente habitado por uma variedade de microrganismos que, até recentemente, não recebiam a devida atenção<sup>1</sup>. Esse conjunto de microrganismos, chamado de microbioma, é um ecossistema complexo e diversificado de bactérias, vírus, fungos e outros microrganismos, que habitam diferentes partes do corpo, incluindo a pele, o trato gastrointestinal, a genitália e a cavidade oral<sup>2</sup>. Assim, a cavidade oral, também é habitat de uma diversidade de microrganismos, e dentre eles os estreptococos em particular se destacam, devido a quantidade. Estes em sua maioria são anaeróbios facultativos, Gram positivos, visualmente arredondados, arranjados em cadeias<sup>3</sup>.

Diversas espécies de estreptococos constituem o microbioma oral, destacando-se os estreptococos do grupo mutans (EGM), um conjunto composto por sete espécies, abrangendo nove sorotipos distintos, dentre eles *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*, que predominam na cavidade oral humana<sup>4</sup>.

Além destes, estão presentes no microbioma oral *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus anginosus*, entre outros. Notavelmente, os EGMs destacam-se por sua habilidade de formar biofilmes bacterianos complexos<sup>5</sup>, estando fortemente associados ao estabelecimento e progressão da doença cárie. Estas bactérias apresentam alta capacidade de se adaptar às variações no ambiente oral, demonstrando habilidade de metabolizar diversos carboidratos, com

destaque para a sacarose, e resistem muito bem a condições ácidas<sup>6</sup>.

Ao longo da história, as plantas têm sido empregadas no tratamento de diversas enfermidades humanas. Um exemplo é a *Matricaria chamomilla*, mais conhecida como camomila, que possui propriedades calmantes e anti-inflamatórias. Outra planta é a *Mentha piperita*, conhecida como hortelã, famosa por suas propriedades digestivas. A espinheira-santa, do gênero *Maytenus spp.*, também é utilizada devido à sua ação anti-inflamatória e cicatrizante, aliviando a dor e favorecendo a cicatrização de úlceras estomacais<sup>7,8</sup>. A espinheira-santa pertence à família Celastraceae, cujos estudos evidenciaram propriedades antibacterianas. Esta família contém 106 gêneros e 1.300 espécies e é amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais. Os principais gêneros desta família são: *Maytenus* (200 spp.), *Salacia* (200 spp.) e *Euonymus* (130 spp.)<sup>9-11</sup>.

Nos últimos anos, o interesse por espécies do gênero *Maytenus* no Brasil tem aumentado, principalmente em função das suas múltiplas propriedades terapêuticas identificadas<sup>12</sup>. Espécies deste gênero apresentam uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo efeitos antirreumáticos, antibacterianos, antitumorais, cicatrizantes, anti-inflamatórios, inseticidas e imunossuppressores<sup>9,13</sup>. *Maytenus truncata* Reiss, uma espécie endêmica da caatinga brasileira, destaca-se dentre as espécies investigadas pelo seu uso tradicional e potencial terapêutico<sup>14</sup>. As folhas de *M. truncata*, tradicionalmente consumidas em chás para tratar úlceras gástricas e doenças uterinas, contêm compostos fenólicos e flavonóides específicos que

podem contribuir para suas propriedades gastroprotetoras e anti-inflamatórias<sup>9</sup>.

Além disso, foi identificada a presença de triterpenos, conhecidos por suas atividades antimicrobianas e anti-inflamatórias<sup>9</sup>, que sugere um potencial promissor para o desenvolvimento de tratamentos fitoterápicos focados no efeito antimicrobiano frente a patógenos orais. Assim, o estudo dos componentes químicos de *M. truncata* e sua aplicação no tratamento de infecções bucais podem ampliar o campo de uso terapêutico dessa espécie, justificando a sua relevância para novas abordagens em saúde bucal e fitoterapia.

Considerando que ao longo da história as plantas tem sido utilizadas para o tratamento de diversas enfermidades humanas<sup>7</sup> e que a inclusão de extratos de plantas medicinais em enxaguantes bucais é uma prática concretizada, devido o potencial de algumas plantas em reduzir a atividade de microrganismos cariogênicos na cavidade oral por meio de testes com diferentes extratos de plantas<sup>15</sup> o presente estudo objetivou investigar a presença de atividade antimicrobiana no extrato de *M. truncata* frente a EGMs.

## Metodologia

### 2.1. OBTENÇÃO DO EXTRATO DA MAYTENUS TRUNCATA

Foram coletados, nos dias 28/08/2019 e 06/11/2019, entre 06:00h e 08:00h, utilizando tesouras de poda, galhos de *Maytenus truncata* que apresentavam folhas livres de impurezas, como insetos e predadores. O primeiro ponto de coleta situou-se nas coordenadas 13°52'373''S e 40°05'862''W, a uma altitude de 227 metros, na

região do município de Jequié, no sudoeste do estado da Bahia, pertencente ao bioma Caatinga. O segundo ponto de coleta localizou-se nas coordenadas 13°53'509''S e 40°02'675''W, a uma altitude de 186,97 metros, também na região de Jequié. Esta área é reconhecida como endêmica para a espécie *M. truncata*.

A seguir os galhos com as folhas foram acondicionadas em sacos plásticos e transportadas para identificação e registro por biólogos do Herbário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB). Após, foram encaminhadas ao Laboratório de Química da Universidade UniFTC, para obtenção do extrato.

Primeiro as folhas foram desmembradas e colocadas para secagem natural em um ambiente arejado com ventilação natural a uma temperatura de 38°C durante 10 dias, e em seguida, submetidas à trituração e pesagem. Após pesagem, as amostras foram submetidas a um processo de maceração em álcool absoluto (99,8%) por um período de sete dias, com agitação esporádica, para obtenção de extrato bruto. Posteriormente foi obtido o extrato etanólico, por meio de extração exaustiva com álcool etílico (95%). A cada processo de extração, o etanol foi removido usando um evaporador rotativo a 60 °C sob pressão. Ao final, foi obtido um extrato etanólico de concentração 50 g/L, que foi diluído para produção dos extratos 1, 8, 16 e 32 g/L.

### 2.2 OBTENÇÃO DA CEPA DE ESTREPTOCOCOS DO GRUPO MUTANS (EGM)

A cepa de EGM foi obtida de uma amostra clínica de saliva não estimulada, doada por participantes anônimos. Essa abordagem foi escolhida porque as cepas de origem clínica

apresentam perfis de suscetibilidade distintos, garantindo uma avaliação mais confiável da ação antimicrobiana, em comparação às cepas ATCC (*American Type Culture Collection*), que podem não representar adequadamente as bactérias encontradas na prática clínica diária<sup>16</sup>.

Amostra da saliva foi colhida em frascos coletores identificados e semeadas por esgotamento com alça microbiológica descartável de 10 µL em meio Ágar Mitis Salivarius suplementado com 20% de sacarose. As placas foram incubadas em estufa a 37 °C em atmosfera microaerófila obtida pela “técnica da vela” por 48 horas.

### 2.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

As colônias isoladas de EGM foram transferidas para tubos de ensaio contendo caldo nutritivo Brain Heart Infusion (BHI), a fim de preparar os inóculos bacterianos. Os tubos foram incubados a 37 °C por 24 horas. Após a incubação, a turbidez das amostras foi ajustada para 0,5 na escala de McFarland utilizando espectrofotômetro (absorbância de 0,10 a 625 nm), o que corresponde a uma concentração aproximada de 150 UFC/mL.

O semeio foi realizado com swabs estéreis em meio Ágar Mitis Salivarius suplementado com 20% de sacarose, aplicando-se o método de difusão segundo as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2009). A técnica, baseada no método de Kirby-Bauer (1966), inicia-se com o preparo do inóculo bacteriano em meio enriquecido, preferencialmente caldo BHI, seguido pelo ajuste de turbidez utilizando a escala de McFarland. Após o preparo, realiza-se o semeio com swab estéril em placas contendo ágar, seguido da

aplicação de discos de papel impregnados com as substâncias a serem testadas.

Discos de papel filtro estéreis, com diâmetro de 6 mm, foram impregnados com 2 µL do extrato de *Maytenus truncata*, tanto para as amostras com espinhos quanto para as sem espinhos, na concentração de 1 g/L. Volumes equivalentes de água destilada e soro fisiológico foram utilizados como controles negativos. A escolha de discos com 6 mm de diâmetro se deve à equivalência com os discos de antibiograma produzidos por fabricante internacional, amplamente utilizados em laboratórios de bacteriologia clínica. A determinação do volume aplicado baseou-se em estudos prévios<sup>17;18;19</sup> nos quais foram utilizados volumes de 10 e 20 µL em discos de 6 mm e 50 µL em discos de 9 mm. Optou-se por um volume inferior para assegurar que o disco absorvesse e retivesse a solução de maneira homogênea, evitando transbordamentos e distorções nos halos de inibição.

Foi utilizado um disco de antibiograma da marca CECON® (Centro de Controle e Produtos para Diagnóstico), com 6 mm de diâmetro e contendo 10 µg de amoxicilina, selecionado como controle positivo. A dosagem de 10 µg de amoxicilina é a dose padrão recomendada para testes de suscetibilidade antimicrobiana empregada em laboratórios de bacteriologia clínica. Além disso, um disco estéril de papel filtro com o mesmo diâmetro foi impregnado com 2 µL de uma solução comercial de digluconato de clorexidina (Periogard®) a 0,12%. Essa concentração de clorexidina é a concentração utilizada nas soluções comerciais (enxaguantes bucais) para tratamentos odontológicos. A suscetibilidade à bacitracina foi também avaliada, com o objetivo de confirmar a identificação de estreptococos do grupo mutans (EGM), conhecidos por sua resistência intrínseca a

esse antimicrobiano. Os discos foram aplicados sobre a superfície da placa contendo Ágar Mitis Salivarius, suplementada com 20% de sacarose meio adequado para cultivo de EGMs.

Utilizando técnica asséptica, foram confeccionados orifícios na superfície do ágar com 6 mm de diâmetro. Estes orifícios foram destinados à ampliação da investigação proposta e à obtenção de referências adicionais para a comparação dos halos de inibição. No interior desses orifícios, foram inseridos 50 µL (volume do orifício) de distintos materiais frequentemente empregados na prática odontológica, a saber: Solução de Diaminofluoreto de Prata (DFP) a 30%, Gel de Flúor Fosfato Acidulado (FFA) 1,23%, e Cimento de Ionômero de Vidro (CIV).

É importante salientar que a seleção de um volume de 50 µL foi deliberada com o intuito de favorecer a formação de uma área circular de 6 mm de diâmetro de material adjacente à superfície do ágar, que fosse equivalente às condições obtidas pelos discos de papel de filtro impregnados com as substâncias a serem submetidas aos testes. A estratégia de utilização de papel de filtro impregnado com essas substâncias foi descartada devido às características físico-químicas das soluções, as quais não foram compatíveis com esse procedimento. Nesse contexto, é fundamental enfatizar a necessidade de resguardar as devidas proporções no volume das substâncias utilizadas ao realizar as comparações. Posteriormente, as placas foram submetidas à incubação em estufa a 37 °C, sob condição de microaerofilia por período de 48 horas.

#### 2.4 AFERIÇÃO DOS HALOS DE INIBIÇÃO

A medição dos halos de inibição foi feita a “olho nu” com auxílio de régua milimetrada e os

valores obtidos comparados com os halos controle. Foram considerados com atividade inibitória os halos com diâmetro maior que 6 mm e sem atividade inibitória a ausência de halo.

#### 2.5 ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA

Foram realizadas análises espectrofotométricas dos inóculos de EGM com a adição de extratos de *M. truncata* com e sem espinhos, em diferentes concentrações (1, 8, 16 e 32 g/L), utilizando clorexidina como controle positivo e soro fisiológico como controle negativo. As medições de densidade óptica foram realizadas em espectrofotômetro digital, IL-226-nm Kazuaki, calibrado de acordo com as recomendações do fabricante.

Para a seleção do comprimento de onda de trabalho (filtro utilizado nas análises espectrofotométricas) foi realizada inicialmente uma varredura espectral completa no espectrofotômetro afim de identificar o fotopico, ou seja, o comprimento de onda com a maior absorbância para o extrato em estudo. Para este procedimento foi utilizado uma solução padrão do extrato, e a varredura abrangeu a faixa disponível no equipamento. A partir dos resultados, identificou-se o pico de absorbância em 625 nm, comprimento de onda que apresentou a maior sensibilidade para detecção da densidade óptica da suspensão bacteriana na presença do extrato de *M. truncata*. Com base nesse procedimento, o filtro de 625 nm foi eleito para todas as medições subsequentes.

As medições foram realizadas imediatamente após a preparação das suspensões e repetidas a cada 24 horas, ao longo de três dias, para verificar o desenvolvimento das curvas de

crescimento. Os intervalos de 24 horas foram escolhidos para acompanhar a fase de crescimento logarítmico, que ocorre logo após a fase de adaptação (fase lag), permitindo o cálculo e observação da taxa de crescimento bacteriano em cada intervalo, de acordo com a fórmula  $T_{xc} = (A - A_0)/\Delta T$ , onde  $T_{xc}$  representa a taxa de crescimento,  $A$  a absorbância final,  $A_0$  a absorbância inicial e  $\Delta T$  o intervalo de tempo.

## 2.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para as análises estatísticas, utilizou-se o software PAST (*Paleontological Statistics Software*), versão 4.05, seguindo literatura em estatística básica<sup>20</sup>. Primeiramente, foi aplicado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, que revelou ausência de distribuição normal nos dados. Diante disso, optou-se pelo teste de Kruskal-Wallis, um método não paramétrico adequado para a comparação de três ou mais amostras independentes, utilizado para identificar diferenças entre os grupos.

Para comparações específicas entre as amostras, aplicou-se o teste de Mann-Whitney (Wilcoxon rank-sum test), adequado para amostras pequenas e útil para verificar se duas amostras independentes pertencem à mesma população, sendo justificado pelas diferenças significativas observadas no teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,001$ ).

A correção de Bonferroni foi utilizada para ajustar o nível de significância nas comparações múltiplas, visando reduzir o risco de erros do tipo I. Os dados foram apresentados por meio de boxplots, que permitem visualizar a distribuição dos dados, incluindo a mediana, os quartis (25%-75%) e outliers, facilitando a comparação entre os grupos.

## Resultados e discussão

Os resultados do ensaio microbiológico com base no método da difusão de Kirby e Bauer<sup>21</sup> utilizando discos e poços na superfície do meio de cultura estão dispostos na tabela 01.

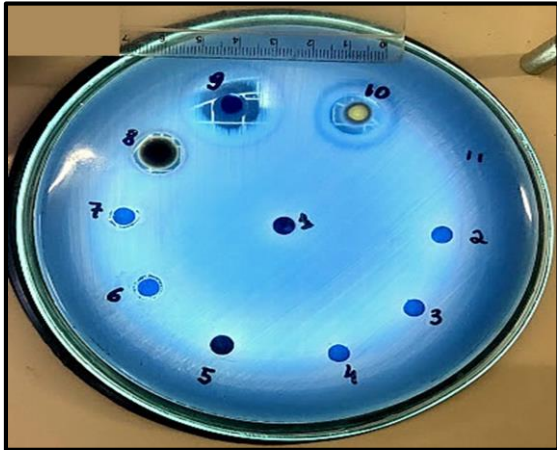
**Tabela 01.** Valores dos diâmetros em milímetros dos halos de controles e extrato de *M. truncata* (1g/L) com e sem espinho no período de 48 horas de incubação a 37°C em condições de microaerofilia obtidas pela “técnica da vela”. Jequié - BA. 2021.

Composto/Substância	Diâmetro do halo (mm)	Dose
01: Amoxicilina 10µg (+)	-	10µg
02: Clorexidina 0,12% (+)	-	2 µL
03: Água destilada (-)	-	2 µL
04: Soro fisiológico NaCl 0,9% (-)	-	2 µL
05: Bacitracina	-	10 µg
06: <i>M. truncata</i> c/esp. 1 g/L	8 mm	2 µL
07: <i>M. truncata</i> s/esp. 1 g/L	8 mm	2 µL
08: Ag(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> F a 30% (+)	14 mm	2 µL
09: Flúor Fosfato Acidulado 1,23% (+)	18 mm	50 µL
10: Cimento de Ionômero de Vidro (+)	15 mm	50 µL

- sem formação de halo / c/esp.: com espinho / s/esp.: sem espinho.

Nos testes utilizando *M. truncata* com e sem espinhos foram observados halos de 8 mm, demonstrando efeito antimicrobiano dos extratos frente ao microrganismo analisado na concentração de 1 g/L. A área de inibição bacteriana vista nos discos com extratos de *M. truncata* na concentração de 1 g/L corresponde a 17,5% da área de inibição do poço controle (+) contendo DFP. Optou-se por utilizar como controle (+) o DFP pois a cepa apresentou resistência à amoxicilina é à CHX conforme observado na figura 01.

**Figura 01:** Placa com ágar Mitis Salivarius suplementado com sacarose a 20% com “poços” e discos com substâncias testadas, após 48 horas de incubação a 37°C em ambiente microaerófilo. 1) Amoxicilina, 2) Clorexidina 0,12%, 3) Água destilada, 4) Soro fisiológico, 5) Bacitracina, 6) *M. truncata* com espinho 1 g/L, 7) *M. truncata* sem espinho 1 g/L, 8) DFP, 9) FFA e 10) CIV.



Os resultados das leituras espectrofotométricas (densidade óptica) a 625 nm dos inóculos controle e com extratos de diferentes concentrações de *M. truncata* com e sem espinho no período de 72 horas, estão disponíveis na tabela 02 abaixo.

**Tabela 02.** Valores de absorvância a 625nm dos inóculos controle e com extratos de diferentes concentrações de *Maytenus truncata* com e sem espinho no período de 72 horas de incubação a 37°C. Jequié - BA. 2021.

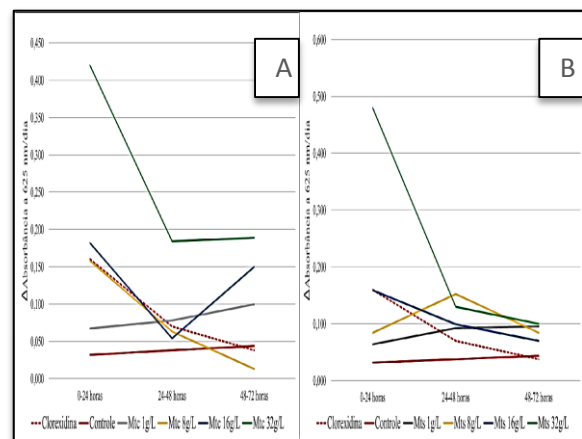
Substâncias	T0	T24h	T48h	T72h
Clorexidina 0,12%	0.117	0.277	0.347	0.385
Soro Fisiológico	0.115	0.147	0.185	0.229
<i>M. truncata</i> com espinho 01 g/L	0.136	0.203	0.281	0.381
<i>M. truncata</i> com espinho 08 g/L	0.902	1.060	1.123	1.136
<i>M. truncata</i> com espinho 16 g/L	0.609	0.791	0.845	0.995
<i>M. truncata</i> com espinho 32 g/L	0.576	0.996	1.184	1.369
<i>M. truncata</i> sem espinho 01 g/L	0.167	0.231	0.323	0.418
<i>M. truncata</i> sem espinho 08 g/L	0.500	0.548	0.736	0.820
<i>M. truncata</i> sem espinho 16 g/L	1.002	1.161	1.261	1.337
<i>M. truncata</i> sem espinho 32 g/L	0.780	1.260	1.393	1.493

Conforme observado na tabela 2, os valores de absorvância dos controles e de todos os testes realizados aumentaram ao longo do tempo de incubação. Os extratos de *Maytenus truncata* com e sem espinho, nas concentrações de 8, 16 e 32 g/L, demonstraram uma capacidade de inibir o

crescimento do microrganismo analisado, com diferenças estatisticamente significativas ( $p=0,030$ ) em relação aos controles positivo (Clorexidina 0,12%) e negativo (Soro Fisiológico NaCl 0,9%). Observou-se que as concentrações mais altas dos extratos de *M. truncata* (16 e 32 g/L) apresentaram um efeito mais pronunciado na redução do crescimento bacteriano, o que pode ser atribuído à maior quantidade de compostos ativos presentes nestas concentrações. O efeito observado nas concentrações elevadas sugere uma relação dose-dependente, onde a quantidade de compostos bioativos dos extratos desempenha importante papel na atividade antimicrobiana observada.

A figura 02 a seguir mostra o comportamento da taxa de crescimento de inóculos de EGMs em caldo BHI frente a diferentes concentrações de extrato *M. truncata*.

**Figura 02:** Variação da taxa de crescimento de inóculo de *Streptococcus mutans* em caldo BHI frente a diferentes concentrações de extrato de *Maytenus truncata* com espinho (gráfico A/esquerda) e sem espinho (gráfico B/direita) no período de 72 horas.



\*Mtc = *Maytenus truncata* com espinho / Mts = *Maytenus truncata* sem espinho.

Conforme observado no Gráfico A da figura 02, a curva controle (-), composta pela suspensão bacteriana em soro fisiológico, apresenta um padrão

de crescimento ascendente, característico da fase de aceleração da curva de crescimento bacteriano. Segundo Murray e colaboradores<sup>22</sup>, essa fase marca o início do crescimento logarítmico, onde as bactérias começam a se dividir em ritmo exponencial. Essa fase é impulsionada pela disponibilidade de nutrientes e condições ambientais favoráveis, que permitem uma rápida síntese de proteínas e outros componentes celulares essenciais para a divisão celular. Dessa forma, a taxa de crescimento bacteriano atinge seu ponto máximo nesta fase, refletindo o potencial metabólico e replicativo das células bacterianas sob as condições experimentais estabelecidas.

Embora tenha sido constatada uma resposta de resistência do microrganismo ao teste com clorexidina pelo método de difusão, a curva do inóculo bacteriano com CHX, utilizado como controle positivo (+), apresentou comportamento descendente, indicando uma taxa de crescimento (Txc) decrescente, atingindo níveis inferiores ao controle negativo (-) após 72 horas de incubação. Ao comparar a evolução do crescimento do inóculo com clorexidina a 0,12% (controle +) com o inóculo em soro fisiológico (controle -), não foi observada diferença estatisticamente significativa ( $p=0,193$ ) pelo Teste de Mann-Whitney com correção de Bonferroni.

A resistência bacteriana à clorexidina, observada neste estudo, pode estar associada a mecanismos específicos que vêm sendo relatados na literatura, como alterações na membrana, atividade da bomba de efluxo e mutações genéticas. O principal mecanismo relacionado à resistência de estreptococos do grupo mutans é a superexpressão da bomba de efluxo que resulta no aumento da atividade de efluxo exibindo expressão aprimorada

de bombas de efluxo, que expõem ativamente o CHX da célula, reduzindo sua concentração intracelular.

Estudos recentes, como o de Moreira e colaboradores<sup>24</sup>, apontam para a capacidade de estreptococos, incluindo EGM, desenvolverem resistência à clorexidina a 0,12%, mesmo em condições experimentais onde se esperava uma inibição significativa do crescimento bacteriano. Esses achados refletem uma preocupação crescente no campo da saúde sobre o impacto do uso indiscriminado de antimicrobianos que pode favorecer a seleção de cepas bacterianas mais resistentes, contribuindo para o problema da multirresistência antimicrobiana.

A Txc descendente do controle positivo (+) indica a fase de retardamento do crescimento do microrganismo antes de alcançar a fase estacionária. Comportamento semelhante foi observado na Txc do inóculo tratado com o extrato de *Maytenus truncata* com espinho na concentração de 8 g/L, que apresentou níveis inferiores aos do controle positivo (+) ao final do período total de observação. Já o extrato de *M. truncata* sem espinho, na concentração de 16 g/L, também demonstrou capacidade de desacelerar o crescimento bacteriano durante todo o período analisado, embora com intensidade menor em comparação ao extrato com espinho a 8 g/L (ver Figura 01). Apesar dessa variação, a diferença entre os grupos não foi estatisticamente significativa ( $p=0,19$ ).

Os fatores que podem explicar a diferença de eficácia entre os extratos com e sem espinho podem estar relacionados à variação na composição química entre as duas partes da planta. Compostos bioativos responsáveis pela atividade antimicrobiana normalmente apresentam-se em concentrações ou



combinações diferenciadas nas cascas e galhos com espinhos, em relação às partes sem espinhos. Análises fitoquímicas em estudos futuros podem esclarecer essas diferenças, contribuindo para uma melhor compreensão dos mecanismos de ação e das potenciais aplicações terapêuticas dos extratos de *M. truncata*.

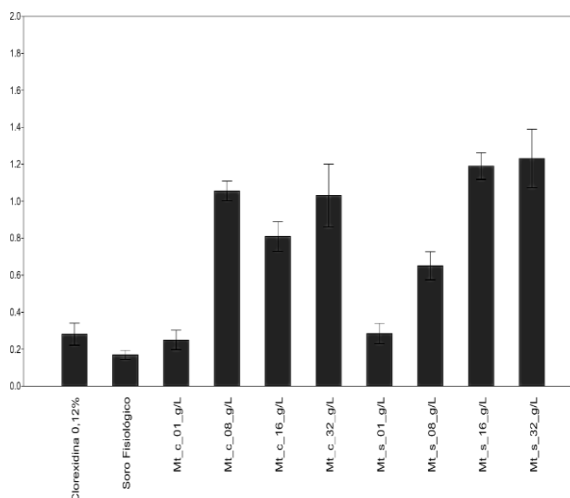
Cerqueira e colaboradores<sup>25</sup> investigaram a atividade antimicrobiana de *Maytenus* sp., avaliando a inibição de aderência celular frente a diferentes cepas de *Streptococcus mutans* (UA159 e Ingbritt 1600). Os resultados desses autores demonstraram que tanto a casca quanto o galho da planta foram eficazes em inibir o crescimento de *S. mutans* UA159 na menor concentração testada (0,03 g/L). Em contraste, a cepa Ingbritt 1600 mostrou resistência a todas as concentrações dos extratos do galho, embora a casca tenha exibido atividade inibitória em concentrações mais altas, com uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 0,12 g/L e uma Concentração Bactericida Mínima (CBM) de 0,25 g/L. Esses dados sugerem que a eficácia dos extratos pode variar de acordo com a cepa bacteriana e a parte da planta utilizada.

No presente estudo, nossos resultados demonstraram um padrão de atividade antimicrobiana similar para o extrato de *Maytenus truncata*, destacando a possibilidade de que o efeito observado possa ser replicável em outros contextos e para diferentes cepas bacterianas. A variação de eficácia entre partes da planta sugere que os compostos ativos devem estar distribuídos de maneira diferente, o que justifica a necessidade de explorar a casca e o galho de *M. truncata* em diferentes concentrações. Assim, futuras investigações podem buscar testar a eficácia do extrato em cepas diferentes e em condições

experimentais variadas, ampliando o conhecimento sobre a aplicabilidade de diferentes partes da planta frente a diferentes cepas.

O resultado da comparação estatística entre as variáveis avaliadas, ao comparar os períodos de coletas em dois tempos diferentes pelo teste de Kruskal-Wallis não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ), contudo pelo teste de Kruskal-Wallis comparando entre as amostras houve diferenças significativas ( $p < 0,001$ ), confirmado pelo teste de média de Mann-Whitney como correção de Bonferroni, o que pode ser observado no gráfico a seguir (Figura 03).

**Figura 03:** Boxplot ilustrando a distribuição das variáveis avaliadas para *Maytenus truncata* onde Mt\_c representa extrato de *Maytenus truncata* com espinho e Mt\_s extrato de *Maytenus truncata* sem espinho.



### Conclusão

A *M. truncata* apresentou efeito inibitório no crescimento da cepa clínica de EGM resistente a antibióticos de primeira escolha. Esses achados indicam que compostos bioativos presentes na *M. truncata* possuem potencial terapêutico para o controle dos níveis de EGM salivares podendo ser utilizados como tratamento complementar ou

alternativo. Além disso, o efeito antimicrobiano da planta frente a EGMs sugere sua possível utilização na formulação de produtos dentários, contribuindo para a prevenção e tratamento de doenças bucais que estão relacionadas a esse grupo de microrganismos, principalmente para cepas resistentes aos antibióticos de primeira escolha. No entanto, são necessários estudos adicionais para identificar os compostos bioativos responsáveis pelo efeito do extrato da planta no crescimento dessas bactérias, bem como investigar a segurança e eficácia da utilização em modelos in vivo e em ensaios clínicos, e sua viabilidade terapêutica em pacientes.

## Referências

1. Oliveira BAS, Protachevicz AP. Multifatoriedade das doenças psíquicas: asserções acerca do microbioma humano. *Anais da Jornada Científica dos Campos Gerais*. 2019;17. Disponível em: <https://iessa.edu.br/revista/index.php/jornada/articloe/view/1694>
2. Sood U, Bhardwaj N, Das S, Singh S. Microbial journey: Mount Everest to Mars. *Indian J Microbiol*. 2022;62(3):323–37. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12088-022-01029-6>
3. Procop GW, Cornbleet PJ, Jansen RS, Koneman EW, Schreckenberger PC, Woods GL. *Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas Colorido*. 7ª ed. Elsevier; 2018.
4. Momeni SS, Ghazal T, Grenett H, Whiddon J, Moser AS, Childers NK. Mutans serotypes and collagen-binding proteins Cnm/Cbm in children with caries analysed by PCR. *Mol Oral Microbiol*. 2019;34(2):64–73. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/omi.12254>
5. De Lorenzo JL. *Microbiologia para o estudante de odontologia*. São Paulo: Atheneu; 2004.
6. Lemos JA, Quivey RG Jr, Koo H, Abranches J. The biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr*. 2019;7(1). Disponível em: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0051-2018>
7. Aleluia CDM, Barros JM, Santos TS. Fitoterápicos na odontologia. *Rev Odontol Univ Cidade São Paulo*. 2017;27(2):126. Disponível em: [https://doi.org/10.26843/ro\\_unid.v27i2.263](https://doi.org/10.26843/ro_unid.v27i2.263)
8. Júnior AAA. *Plantas Medicinais na Terapêutica Humana*. Viçosa: Editora UFV; 2020.
9. Fonseca APND, Gouveia GL, Prado FC, Sousa JC, Pereira MG. Estudo fitoquímico do decocto das folhas de *Maytenus truncata* Reissek e avaliação das atividades antinociceptiva, antiedematogênica e antiulcerogênica. *Quím Nova*. 2007;30(4):842–7.
10. Bukhari SN, Jantan I, Seyed MA. Effects of plants and isolates of Celastraceae family on cancer pathways. *Anticancer Agents Med Chem*. 2015;15(6):681–93. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1871520615666150318101149>
11. Judd WE, Campbell CS, Kellog EA, Stevens PF. *Sistemática vegetal: um enfoque filogenético*. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2009.
12. Niero R, Andrade SF, Filho VC. A review of the ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of plants of the *Maytenus* genus. *Curr Pharm Des*. 2011;17(11):1110–22. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21554223/>
13. Clarice NM, Batista LM, Brandão MD. Pharmacological potential of *Maytenus* species and isolated constituents, especially tingenone, for treatment of painful inflammatory diseases. *Rev Bras Farmacogn*. 2017;27(4):533–40. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2017.02.006>

14. Silva JL, Albuquerque VS, Santos KA, França MC. Avaliação da atividade antiulcerogênica da *Maytenus truncata* Reiss (Celastraceae). *Rev Bras Farmacogn.* 2005;15:30–5. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000100007>
15. Molina FP, Majewski M, Perrela FA, Oliveira LD, Junqueira JC, Jorge AOC. Própolis, sálvia, calêndula e mamona: atividade antifúngica de extratos naturais sobre cepas de *Candida albicans*. *Cienc Odontol Bras.* 2008;11(2):86–93. Disponível em: <https://doi.org/10.14295/bds.2008.v11i2.472>
16. Scalia RA, Santos NR, Reis AF, Santos VG. Atividade antimicrobiana in vitro da *Luffa operculata*. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2015;81:422–30. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2014.07.015>
17. Rabanal RM, Arias A, Prado B, Hernández-Pérez M, Sánchez-Mateo CC. Antimicrobial studies on three species of *Hypericum* from the Canary Islands. *J Ethnopharmacol.* 2002;81:287–92.
18. Karaman İ, Şahin F, Güllüce M, Ögütçü H, Şengül M, Adigüzel A. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *J Ethnopharmacol.* 2003;85:231–5.
19. Chandrasekaran M, Venkatesalu V. Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jambolanum* seeds. *J Ethnopharmacol.* 2004;91:105–8.
20. Field A. *Descobrimos a estatística usando o SPSS-5*. Porto Alegre: Penso Editora; 2020.
21. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966;45:493–6
22. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiologia médica*. 8ª ed. Elsevier; 2015.
23. Huang S, Huang J, Du J, Li Y, Wu M, Chen S, Zhan L, Huang X. The LiaSR two-component system regulates resistance to chlorhexidine in *Streptococcus mutans*. *Microorganisms.* 2024;12:468. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12030468>
24. Moreira ACA, Sampaio FC, Rabelo CR, Leite MCA, Peixoto FZ. Atividade de um enxaguatório bucal com clorexidina 0,12% sobre a microbiota sacarolítica da saliva. *Rev Cienc Med Biol.* 2008;7(3):266–72. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/1723>
25. Cerqueira JV, Andrade M, Siqueira JF Jr, Ferraz CC. Avaliação antimicrobiana dos extratos etanólicos da *Maytenus* sp. (galho e casca) sobre estreptococos do grupo mutans. *Diálogos Cienc.* 2019;34(1):1–4.

Gabriel Magalhães Cairo

Rua Sol Nascente, nº 59, Residencial Vila Paraíso,  
Bairro: Água Branca, Jequié – BA.

CEP: 45206-751

E-mail: leirbag\_@hotmail.com

---

Recebido em 01/06/2024

Aprovado em 11/12/2024

Publicado em 18/12/2024