



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL**  
**UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**CURSO DE ODONTOLOGIA**  
**CAMPUS PATOS**

**NATÁLIA OLIVEIRA MATOS**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIADERENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE**  
***Eucalyptus globulus* E *Eucalyptus citriodora* CONTRA CEPA DE**  
***Staphylococcus aureus***

**PATOS – PARAÍBA**

**2020**

**NATÁLIA OLIVEIRA MATOS**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIADERENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE  
*Eucalyptus globulus* E *Eucalyptus citriodora* CONTRA CEPA DE  
*Staphylococcus aureus***

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho

**PATOS – PARAÍBA**

**2020**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

M433a

Matos, Natália Oliveira

Avaliação do efeito antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepa de *Staphylococcus aureus* / Natália Oliveira Matos. – Patos, 2021.  
46f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Odontologia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2021.

“Orientação: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira”.

Referências.

1. Biofilme dentário. 2. Óleos essenciais. 3. Fitoterapia. I. Título.

CDU 616.314

**NATÁLIA OLIVEIRA MATOS**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIADERENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE  
*Eucalyptus globulus* E *Eucalyptus citriodora* CONTRA CEPA DE  
*Staphylococcus aureus***

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

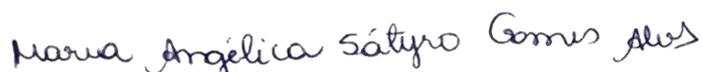
Aprovado em 20 / 04 / 2021

**BANCA EXAMINADORA**



---

Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho – Orientador  
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG



---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Maria Angélica Sátyro Gomes Alves – 1º Membro  
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG



---

Prof. Dr. Julierme Ferreira Rocha – 2º Membro  
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

*Aos meus pais Evelyn e Abel, minha avó  
Iolanda, meus irmãos e Deus por terem sido  
incentivo, apoio e força quando precisei.*

## AGRADECIMENTOS

Ser grato é uma escolha. Não é fácil, mas é subestimada. É poderoso. Eu me lembro de quando decidi me comprometer a enxergar todas as situações da minha vida com a tranquilidade e a gratidão daquele que descansa e confia em Deus. Passei a enxergar a dificuldade como aprendizado, a perda como livramento. Me apaixonei e me deslumbrei com o inesperado, com a mudança. E quando eu não tive controle sobre determinada situação tentava me acalmar com a ideia de que algum dia, lá na frente, eu entenderia por que as coisas não aconteceram da forma que eu quis, e esse momento sempre chegava. Sou imensuravelmente grata a **Deus** por ter me acompanhado em cada passo da minha jornada, por nunca ter permitido que me sentisse só, por ter sido o que eu ousou chamar de amigo, por ter colocado no meu caminho as pessoas certas, nos lugares e momentos certos e por ter falado comigo através delas, por ter sido Pai, acolhedor, bondoso, especialmente quando a falta dos meus se tornava insuportável. Me perdoe pelas vezes que chorei, me revoltei, me desesperei por achar que o tempo certo era o meu. Que eu sempre tenha isso em mente: Deus é bom. E essa é a única descrição que faz sentido pra mim.

Durante toda minha vida e especialmente durante essa graduação fui abençoada com pessoas que fizeram papel de anjos em minha vida, a elas eu agradeço eternamente.

Sou grata a **minha família**, por sempre terem me incentivado a seguir meu sonho, me apoiado e me aconselhado em todos os momentos em que me senti perdida.

À minha mãe **Evelyn**, por ter sido o maior modelo de perseverança, determinação e força que tive o prazer de ter. Por ter sido minha melhor amiga em inúmeros momentos, por sempre ter me ensinado, por ter me incentivado a vir a Patos correr atrás dos meus sonhos, por sempre ter compartilhado comigo sua jornada e suas experiências, mesmo as mais difíceis, pra que eu pudesse aprender com elas. Por ter orado por mim, fazendo com que eu sentisse Deus comigo em todos os momentos em que a senhora não pôde estar fisicamente. Obrigada pelos puxões de orelha, por ter cuidado quando eu ainda não sabia o que era melhor pra mim, por ter nos colocado sempre em primeiro lugar, antes mesmo de si própria. A senhora

sempre percebeu, antes que eu pudesse, quem me faria bem e quem não e o que eu deveria manter em minha vida. Me perdoe pelas vezes em que minha imaturidade me levou a sentir na pele a dor de algo que poderia ter sido evitado com um conselho seu. Obrigada pelo ensinamento recente que nunca vou esquecer “quando abrimos mão de algo em nossa vida, deve ser pra Ir em busca de uma coisa melhor ainda. Não devemos aceitar menos que isso”. O orgulho e o amor que sinto em ser sua filha nunca conseguirei descrever. Ao meu pai **Abel**, por incentivar em mim, desde pequena, a buscar a independência e por sempre ter apoiado minha busca pelo futuro que sempre sonhei, por sempre ter comemorado minhas conquistas como se fossem suas, por sempre demonstrar o orgulho que sentia por mim. Obrigada pelos dias e noites na estrada, pra que eu possa me dedicar somente ao estudo. E obrigada por ser tão forte, tão guerreiro, trabalhador e batalhador e por acreditar em mim.

Agradeço à minha **avó Iolanda** por ser o maior exemplo de cristã que eu conheço. Por ter me apresentado a bondade de Deus, por ter me incentivado a me aproximar dEle, por rezar por mim todos os dias, principalmente em momentos difíceis. Saiba que seus áudios dizendo que me ama, perguntando como estou, dizendo que está com saudades e pedindo pra Deus me abençoar foram meu único consolo nos momentos mais delicados, foram o abraço que faltava, o carinho que eu precisava, me deram forças pra continuar. E ao meu avô, em memória, que não conheci, infelizmente, mas que acredito olhar por mim de onde estiver.

Aos meus irmãos **Maria Eduarda, Caetano, Ana Lis e Elloah** por compartilharem essa vida comigo, por serem amigos além de irmãos, pelo cuidado, pelo amor, pelo abraço, pelas risadas infinitas, pelos momentos bons e ruins que compartilhamos, por terem sido minha companhia e meu refúgio. Eu amo vocês de uma forma que só consigo definir como cuidado de Deus.

Obrigada a todos os meus **tios e tias, primos e primas, meu avô Noé e tia Elília, tia Marília, tia Noelma, meu bisavô Nemésio e minha bisavó Idália**, em memória, que me ensinaram muitas lições ao longo da minha vida e que me fizeram tão bem em tantos momentos, além de não medirem esforços pra me ajudar, em especial, meu padrao **Jailson**, meu tio **Muller, Júlia, tia Arlete** e meus primos **Isadora** e

**João Vitor**, pelos dias e momentos que compartilhamos, pela presença, carinho e amor.

Às minhas amigas **Catarina, Ana Luiza e Luciana** por tudo que já vivemos juntas, por todos os anos de amizade e por serem com quem sei que posso contar sempre. Saibam que também estarei sempre aqui pra vocês.

À família que construí em Patos através da UFCG. A **Rafaella**, por ter sido parceira desde o primeiro momento, pelas risadas por besteiras que só a gente entendia, pelos desabafos, pelos conselhos, pelos momentos bons que foram únicos, mas também pelos momentos difíceis, pela diversão, por ter sido verdadeira e pelo cuidado sem medir esforço. Você é uma das menores pessoas que eu conheço com um dos maiores corações que eu já conheci. Nunca te vi negando ajuda a quem quer que fosse e te admiro como uma das melhores, de alma e de coração.

A **Joyce**, que é uma irmã de alma, a quem eu recorro em qualquer situação, seja ela boa ou ruim, que me escuta tentando compreender e me aconselha tentando me levantar. Obrigada por tudo que vivemos juntas, por tudo que confidenciamos uma à outra e por sempre estar disponível quando mais preciso. Sou grata por termos nos aproximado e mais ainda por nossa amizade funcionar tão bem. Espero que pra sempre.

A **Laís**, pela amizade que me traz paz, calma, pela companhia, pelos filmes, pelos almoços, pelos momentos na laje, pela paciência e pelos conselhos. Sou só admiração pelo seu jeito, pela sua evolução e por quem você é. Obrigada por todos esses anos ao meu lado e por todo o cuidado, carinho e amor.

A **Mateus**, por ter sido meu parceiro, companheiro e, agora, meu amigo. Obrigada por ter feito da sua casa minha também e por ter dividido comigo momentos incríveis, sua família e seus amigos. Tem um lugar no meu coração que vai carregar pra sempre a gratidão por tudo que vivemos juntos. E à **Solange e Israel** por terem sido tão acolhedores e por me incluírem em momentos tão incríveis que vivi junto com sua família.

A **Ana**, por ter dividido comigo a casa, os roles, os momentos bons, pelos dramas pra sair de casa toda vez (até disso sentirei falta), pela amizade de tantos anos e pelas histórias compartilhadas. Sou muito grata pelo que vivemos juntas.

A **Rodrigo** por ter despencado da Bahia, do lado da minha cidade, pra nos conhecermos na Paraíba. Tua amizade foi extremamente importante pra mim no início da graduação e assim permanece até hoje, admiro muito tua facilidade de rir de tudo e fazer todo mundo cair na risada também, nem todo mundo consegue enxergar o mundo tão leve assim. Obrigada por ter sido companheiro na graduação e nas viagens de 24h no Guanabara.

A **Rosana** pela gentileza e pelo cuidado sempre. Por ser tão forte e delicada ao mesmo tempo. Obrigada, Rô, por estar sempre presente, por sempre oferecer ajuda, sempre cuidar como uma mãe, irmã e amiga, todas numa mesma pessoa. Você é rara e eu sou muito grata por te ter em minha vida.

A **José Orlando**, por ser mais que amigo, friend. Obrigada, Zé, por todas as conversas que tivemos, pelas histórias que dividimos um com o outro, pelos anos de amizade, pelos rolês na laje monstra, na chuva, no Shalom, na missa. Pela nossa amizade que se encaixa em qualquer lugar.

A **Lucas Linhares**, por ser um amigo até difícil de descrever usando poucos adjetivos. Disposto a ajudar em qualquer situação, a ouvir, aconselhar mesmo que quando tu mesmo gostaria de um conselho. Muito obrigada por ser alguém que eu confio de olhos fechados e por ter confiado em mim também. A gente sabe o que já compartilhamos e nunca se esqueça que estarei sempre aqui. Obrigada até pelas piadas sem graça e pelas risadas sempre.

A **Vitor**, que divide comigo a terra de origem também, que faz parte da nossa família Bahia. Obrigada pelos momentos mais felizes, pelas danças, pelas conversas, pelo colo quando precisei, pelo carinho e amor sempre, por me acolher na sua casa e por ouvir minhas ladainhas.

A **Neto**, por me receber tão bem em qualquer uma de suas casas. Os melhores momentos, mais aleatórios, mais divertidos, dividi contigo e sou muito grata por cada um deles. Obrigada por dividir comigo o amor pela leitura também. Que a gente se esbarre sempre nos carnavais da vida e que nossa amizade nunca diminua.

A **Letícia**, por ser a titia mais memezeira e mais divertida que conheço. Obrigada por ser minha parceira de autoescola, de cafés da tarde, de rolês aleatórios, de danças do fitdance e de qualquer outra coisa porque a gente se encaixa em qualquer lugar.

A **Nathan**, por ter sido tão companheiro, pelas risadas, pelos memes, pelas montagens icônicas, por todos os momentos que vivemos juntos que nos lembraremos pra sempre.

A **Regina**, por tudo. Pelos incontáveis momentos bons e pelos momentos difíceis. Sou grata por cada um deles. Tudo que vivemos é experiência e eu aprendi muito. Obrigada por ter confiado em mim pra ouvir sua história, pra saber de cada detalhe da tua vida e obrigada por ter sido tão parceira nesses anos.

A **Fabiana e Filipe** por muitas vezes terem me ajudado em momentos que talvez nem soubessem que eram difíceis pra mim. Obrigada, Fabi, por ter tentado me ajudar sempre que pôde, pelo carinho e cuidado. E obrigada, Lipe, pelos conselhos, pelas músicas que acalmavam e por tudo que aprendi te vendo e te ouvindo.

A todo o grupo **Saídas, Letícia, Ana, Camila, Hillary, Joyce, Laís, Linhares, Manu, Nathan, Neto, Rafa, Rodrigo, Rosana, Ruhama, Shey, Vitor e Zé** que não precisam nem de descrição, tudo que vivemos juntos cabe num livro e que bom que teremos essas memórias pra darmos risadas pra sempre.

Obrigada a toda a **turma XV**, por terem sido como família ao longo dessa graduação, pela união, pelo carinho e pelo respeito. Levo cada um na memória e no coração. Obrigada, **Fabiana, Filipe, Joyce, Linhares, Neto, Paula, Rafaella, Rodrigo, Vitor, Amanda, Ana, Caio, Fernanda, Gabi, Hillary, Karllos, Laís, Laryssa, Letícia, Luiz, Manu, Mateus, Matheus, Nathan, Regina, Ruhama, Sheyliane, Tays, Thallita, Zé, Vinicius, Lucas, Quemuel e Júlia**.

A todos os amigos do “Grupo sem nome”, **Iury, Raquel, Iza, Rodrigues, Vinicius, Leilyanne, Daniel, Gabriel, Albuquerque, Allysson, Lisle, Victor, Renata e Karissa** por terem sido uma das melhores surpresas que o destino me apresentou. Obrigada pelos domingos juntos, pelos jogos, pelas conversas, risadas, pelas músicas, pelas viagens e por todos os momentos em que estivemos juntos.

A **Lucas Assis**, que foi uma generosidade de Deus comigo. Uma das melhores pessoas que conheci aqui e que em um momento tão difícil da minha vida, me fez ver um outro lado, em que Deus seria meu suporte. Obrigada por ter me apresentado o Goel, pelo qual serei eternamente grata. Obrigada por tudo que compartilhamos. Só penso em ti com o coração cheio de gratidão e amor.

Sou muito grata também a todos os **professores** aos quais fui apresentada durante o curso. Aprendi algo com cada um deles, não só relacionado à Odontologia, mas à vida como um todo.

A **Julierme**, por quem tenho uma enorme admiração como professor e como pessoa. Quem me trouxe ensinamentos que levarei comigo a vida inteira. Obrigada pelas aulas que me encantaram, pelas frases inesquecíveis e pela ciência que se fizeram mesmo fora da sala de aula, afinal qualquer lugar e qualquer momento contigo poderiam se tornar uma lição pra vida. Sua forma de ensinar, seu cuidado e respeito com os pacientes, a conversa olho no olho, a linguagem fácil de acompanhar, tudo isso me leva a considerá-lo um dos melhores professores que tive o prazer de conhecer. Obrigada pela oportunidade de participar da **Liga Acadêmica de Cirurgia (LAC)**, que foi e é meu maior sonho na graduação desde o primeiro período e pelo qual serei eternamente grata, projeto que se tornou uma grande família e de onde obtive conhecimentos que farão toda a diferença na minha prática clínica.

A professora **Angélica**, pela bondade e cuidado em forma de pessoa. Sua didática em sala e seu carinho com todos fazem com que cada aluno que passe por ti, sinta uma admiração e gratidão enormes. Em cada prova, nós conseguíamos perceber o cuidado, em cada demonstração na aula, repetida até que todos os alunos tivessem compreendido, era possível perceber que se importava. O cuidado, a vontade de ajudar, a determinação, a força, coragem, a garra é visível em qualquer área na qual esteja envolvida e nessa nova fase não será diferente. Obrigada por todos os momentos dessa graduação. Com certeza a caminhada foi mais fácil com você nela.

A professor **Abrahão** que eu não canso de tecer elogios desde o primeiro contato no segundo período, com a disciplina de Bioquímica. É uma daquelas aulas com vontade, fazendo um link entre cada assunto e algo da nossa possível vivência

clínica, com uma inteligência e um estudo que prende a atenção, com uma técnica que explicação que facilita a compreensão de todo mundo. Desde a primeira aula eu sou só admiração. E isso só foi se firmando ao longo do tempo, na extensão **(Intercâmbio de informações entre Universidade-Escola-Comunidade para difusão do uso racional de fitoterápicos)** e em outras aulas, nos relatos de outros alunos. Creio que a melhor forma de descrever isso é dedicação. É visível sua dedicação aos alunos, aos projetos, às pesquisas. Seus alunos sabem que podem contar contigo em qualquer situação e essa disponibilidade dentro da graduação, infelizmente, é rara. Obrigada pela orientação, por ter aceitado essa tarefa sem hesitar, por ter sido paciente e por ter me guiado a todo o momento.

A **Gymena e Camila** pela oportunidade tão incrível de ter sido monitora em Dentística. São duas professoras maravilhosas, com quem aprendi muito e agradeço especialmente à Camila, pelo carinho, pela doçura e pelo cuidado com seus alunos, por tentar aliviar o peso dos nossos dias na faculdade com as brincadeiras e confraternizações, nunca esquecerei.

A **George, Cyntia e Keila**, por todo o aprendizado e pela oportunidade de participar da **Liga Acadêmica de Diagnóstico Oral**, que é um dos meus maiores orgulhos da graduação. Aprendi, vivi e me desenvolvi muito durante essa extensão e as coisas que vivenciei, principalmente as visitas ao Hospital Universitário Alcides Carneiro, são experiências que enriqueceram minha visão e que guardarei pra sempre na memória.

A todos os **pacientes** que confiaram em mim durante todo esse percurso, com os quais aprendi mais sobre humanidade, gentileza, cuidado, respeito e paciência.

Aos **funcionários da UFCG**, sem os quais o campus não funcionaria. Meu agradecimento especial a **Diana, Poliana, Damião, Laninha, Neuma, Laércia, Aline, Soró e Moisés** pelas manhãs e tardes compartilhadas, por toda a ajuda e por serem sempre solícitos.

A **Patós**, por ter sido meu lar durante todos esses anos, por ser o lugar onde tantos momentos maravilhosos foram protagonizados, onde conheci e me apaixonei pelo curso que escolhi, onde me aproximei de pessoas que seriam tão importantes pra

mim que eu consideraria família, por ter sido o lugar onde assumi tantas responsabilidades, onde deixei de ser adolescente pra aprender a lidar com a vida adulta e por ter sido uma surpresa tão boa desde o início.

A **UFCG** por ter sido a casa da minha graduação, por ser o lugar onde vivi tanto, fui tão feliz, chorei, sofri, mas acima de tudo, onde mais aprendi e que considero meu lar acadêmico.

Enfim, sou grata a todos aqueles que cruzaram meu caminho durante essa longa jornada, não apenas durante a graduação, mas ao longo de toda minha vida. Cada encontro, por menor que tenha sido, deixou uma marca que me faz ser quem sou hoje. Obrigada, inclusive, àqueles que por alguma razão não mencionei aqui, mas que serão sempre parte da minha história. Esse momento marca o fim de um ciclo e estou pronta pro futuro que Deus preparou pra mim. Que seja tão incrível quanto este.

*“Até um par de asas podem se tornar um peso quando falta coragem”*

*- Zack Magiezi*

## RESUMO

**Introdução:** O biofilme dental é uma estrutura complexa formada a partir da adesão de variadas células microbianas à película adquirida sobre a estrutura dentária. Essas células se aderem umas às outras enquanto sintetizam uma matriz extracelular, tornando uma comunidade altamente organizada, o que dificulta sua remoção e promove uma resistência aos antimicrobianos. A presença de *Staphylococcus aureus* no biofilme oral pode causar um desequilíbrio na microbiota facilitando o início de um processo de doença. O controle mecânico desse biofilme através da escovação e uso do fio dental é a melhor forma de prevenção, porém, o controle químico, com uso de produtos naturais, a exemplo dos óleos essenciais, tem ganhado ênfase na Odontologia pelo seu potencial antiaderente e antibacteriano. **Objetivo:** Dentro desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a capacidade antiaderente do *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Staphylococcus aureus*. **Resultados:** Foi possível observar que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* foi capaz de inibir a formação do biofilme com uma Concentração Inibitória Mínima de Aderência semelhante ao digluconato de clorexidina 0,12%, ambos de 1:8. O óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* não impediu a aderência bacteriana às paredes do tubo em nenhuma concentração avaliada. **Conclusão:** Pode-se concluir que apenas o óleo essencial da espécie *Eucalyptus globulus* possui atividade antiaderente contra *Staphylococcus aureus*, podendo ser utilizado como produto alternativo para controle do biofilme.

Descritores: Biofilme dentário; Óleos essenciais; Fitoterapia.

## ABSTRACT

**Introduction:** Dental biofilm is a complex structure formed from the adhesion of various microbial cells to the film acquired on the dental structure. These cells adhere to each other while synthesizing an extracellular matrix, becoming a highly organized community, which makes it difficult to remove and promotes resistance to antimicrobials. The presence of *Staphylococcus aureus* in the oral biofilm can cause a disturbance in the microbiota, facilitating the beginning of a disease process. The mechanical control of this biofilm through brushing and flossing is the best form of prevention, however, chemical control with the use of natural products such as essential oils, has gained emphasis in Dentistry due to its non-adherent and antibacterial potential. **Objective:** In this context, the present study aimed to evaluate the non-adherent ability of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus citriodora* against *Staphylococcus aureus* strains. **Results:** It was possible to observe that the essential oil of *Eucalyptus globulus* was able to inhibit the formation of the biofilm with a Minimum Adhesive Inhibitory Concentration similar to 0.12% chlorhexidine digluconate, both of 1:8. The essential oil of *Eucalyptus citriodora* did not prevent bacterial adherence to the tube walls in any evaluated concentration. **Conclusion:** It can be concluded that only the essential oil of the species *Eucalyptus globulus* has non-adherent activity against *Staphylococcus aureus* and can be used as an alternative product to control the biofilm.

Descriptors: Dental biofilm; Essential oils; Phytotherapy.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

QS	<i>quorum sensing</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. citriodora</i>	<i>Eucalyptus citriodora</i>
<i>E. globulus</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>
<i>E. staigeriana</i>	<i>Eucalyptus staigeriana</i>

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>17</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>18</b>
2.2. STAPHYLOCOCCUS AUREUS	21
2.3. ÓLEOS ESSENCIAIS	22
2.3.1. <i>Eucalyptus citriodora</i>	23
2.3.2. <i>Eucalyptus globulus</i>	24
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>25</b>
<b>3. ARTIGO</b>	<b>28</b>
<b>4. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>38</b>
<b>ANEXO A – NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA</b>	<b>39</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O biofilme é definido como uma comunidade sésil de células microbianas fortemente aderidas a um substrato ou a uma superfície, composto por uma ou múltiplas espécies, embebidas em uma matriz de polímeros extracelular produzidas por elas mesmas (BOWEN et al., 2018). Estes microorganismos se comunicam através de sinais emitidos a partir das células num mecanismo denominado *quorum sensing* (QS) (KAVANAUGH et al., 2016). Esta organização e composição do biofilme oral garantem uma estabilidade física que dificulta sua remoção e promove a resistência aos antimicrobianos (PETERSON et al., 2015).

O biofilme dental se estabelece primeiramente em áreas mais estáveis do elemento dental onde as bactérias são mais protegidas do acesso à remoção mecânica, tais como as regiões interproximais, superfícies oclusais e, supragengivalmente, ao longo da margem gengival (LARSEN; FIEHN, 2017). As células organizadas em biofilmes possuem uma taxa metabólica mais eficiente, exibindo maior resistência às fontes de estresse, como mecanismos de defesa do hospedeiro (BOWEN et al., 2018).

Os gêneros e espécies predominantes na boca variam muito para cada indivíduo, sendo as bactérias do gênero *Staphylococcus*, um dos tipos que comumente podem ser encontrados. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é uma bactéria Gram-positiva, comumente associada a diversas infecções sistêmicas e localizadas (WANG, 2017), mas também tem demonstrado uma forte relação com infecções em implantes dentários (BELIBASAKIS et al., 2014). Estes têm sido apontados como possíveis reservatórios desses microorganismos que são potencialmente patogênicos para causar infecções respiratórias (ODONNELL et al., 2015).

A presença de *S. aureus* oral pode desregular a relação simbiótica benéfica entre o hospedeiro e a comunidade de microorganismos que ocorre num biofilme associado à saúde (SCHNURR, 2019). O desequilíbrio da homeostasia e das respostas imune e inflamatória está diretamente associado a uma maior diversidade microbiana no biofilme. Quando isso ocorre, microorganismos que não compõem a

microbiota oral podem se aproveitar dessa alteração para se integrarem no biofilme. Neste caso, com o biofilme dental desequilibrado, se inicia e se sustenta um processo de doença (SANZ et al., 2017; SCHNURR, 2019).

O controle regular do biofilme dentário através da escovação e uso do fio dental (método mecânico) e a complementação com compostos químicos compõem o principal fator de prevenção e tratamento dessas doenças (SAHNI et al., 2016). Em situações nas quais a remoção mecânica da placa bacteriana é insatisfatória, seja por falta de destreza manual, incapacidade motora ou casos de internação hospitalar, o método químico de controle se torna ainda mais necessário (CANTARELLI, 2015).

Dentre os produtos químicos que podem ser utilizados como adjuvantes no controle do biofilme oral, estão os óleos essenciais que são substâncias voláteis que apresentam uma composição lipofílica, obtidos a partir de variados órgãos de plantas (EL ASBAHANI et al., 2015). Vários estudos demonstraram a capacidade antibacteriana e antiaderente desses produtos naturais (ALBUQUERQUE, 2018). O eucalipto é uma das principais fontes de extração dos óleos essenciais cultivadas no Brasil, dentre as quais se destacam as espécies: *Eucalyptus globulus* (*E. globulus*), *Eucalyptus citriodora* (*E. citriodora*) e *Eucalyptus staigeriana* (*E. staigeriana*) (VITTI; BRITO, 2003).

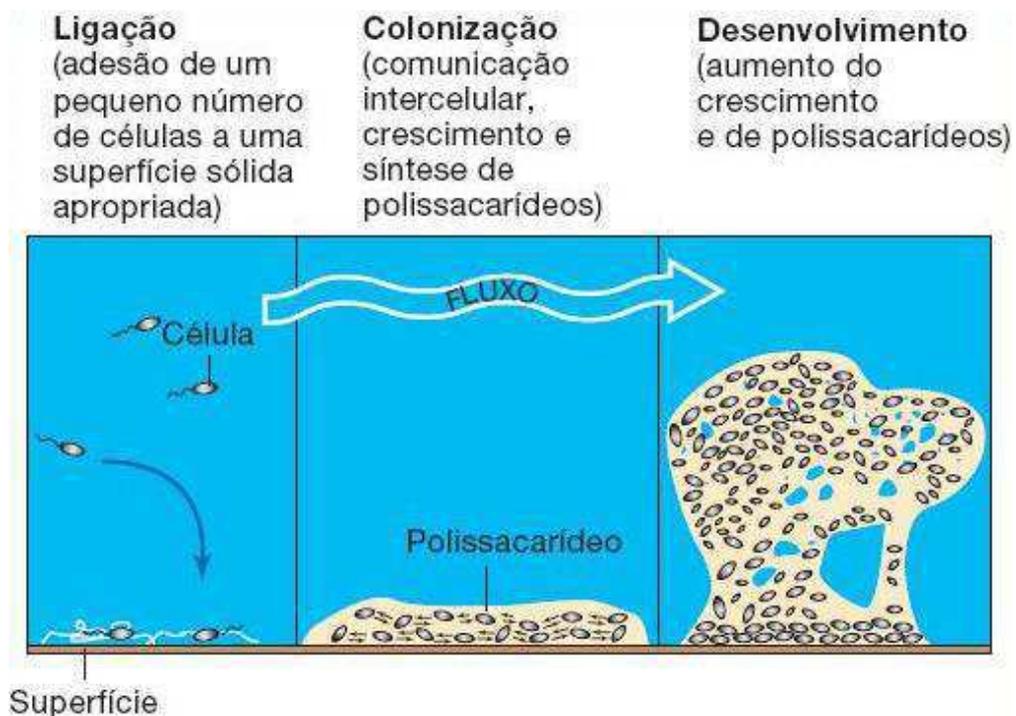
Diante da possibilidade do uso de uma maior variedade de produtos naturais dentro da Odontologia, da necessidade de compostos que causem menos efeitos indesejados e do potencial antiaderente e da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais extraídos a partir do eucalipto, que podem contribuir na prevenção da formação do biofilme dentário, principalmente por bactérias da espécie *S. aureus*, o presente estudo avaliou a capacidade antiaderente do *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Staphylococcus aureus*.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

## 2.1. BIOFILME DENTÁRIO

O biofilme dental é uma estrutura complexa formada pelo acúmulo de microorganismos que pode apresentar uma localização supra e/ou subgengival, possuindo particularidades de acordo com a superfície na qual está localizada. A depender dos tipos de espécies que farão parte desse ecossistema e do seu potencial de patogenicidade, podem provocar uma alteração da normalidade resultando em doenças como a cárie, gengivite e doença periodontal (BOWEN et al., 2018; PETERSON et al., 2015). O início da formação do biofilme se dá com a adsorção de macromoléculas da saliva na superfície dentária, formando a película adquirida, essencial para a colonização inicial dos microorganismos planctônicos, que são aqueles em suspensão no meio líquido. Eles se aderem à película e, após, uns aos outros enquanto sintetizam matriz extracelular (YU et al., 2021). (Imagem 1).

Imagem 1: Formação do biofilme.



Fonte: <https://www.blogs.unicamp.br/meiodecultura/2010/04/22/comunicacao-bacteriana/>

A nutrição que garante a sobrevivência desta microbiota na mucosa oral e superfície dentária advém das proteínas e glicoproteínas da saliva e dos carboidratos, proteínas e lipídeos provenientes da dieta do hospedeiro. A condição

de saúde oral está diretamente relacionada com uma baixa diversidade e riqueza presente dentro da comunidade microbiana (COSTALONGA; HERZBERG, 2014).

Lazar e Chifiriuc (2010) e Kavanaugh et al. (2016) apontaram que a capacidade dessas células de se comportarem como uma comunidade resulta de um mecanismo complexo de comunicação intra e extracelular inerente às bactérias, baseado num sistema de sinalização regulado pelo QS que implica na regulação de diferentes processos fisiológicos que dependem da densidade celular. A linguagem utilizada nessa comunicação intercelular se baseia num pequeno sinal molecular gerado pela própria célula, conhecido como feromônio bacteriano, apresentando diferentes estruturas químicas para diferentes tipos de bactérias.

Existem aproximadamente 700 filotipos de bactérias comumente encontradas na microbiota bacteriana oral, de acordo com J. e Palmer Junior (2013), organizadas em colônias cuja evolução e formação dependem de fatores que incluem a aderência desses microrganismos ao tecido epitelial e superfície dentária, união entre as células que garante o processo de colonização e a interação intercelular que conduz à adequação do ambiente.

Segundo Dewhirst et al. (2010), mais de 600 espécies diferentes de bactérias podem ser encontradas naturalmente na boca. Alguns dos gêneros com maior representação em cavidades orais saudáveis incluem *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Lactobacterium*, e *Staphylococcus* (ZARCO et al., 2011).

Descobrir um método efetivo e consistente de remoção da placa bacteriana tem sido o foco de muitos grupos de pesquisa na Odontologia há muito tempo (ANSARI et al., 2019). A forma mecânica de remoção, através da escovação adequada, ainda é a principal técnica de controle do crescimento dessa complexa estrutura, porém, a associação dessa com o método químico apresenta grande sucesso na desaceleração e/ou impedimento do desenvolvimento do biofilme dentário (MENEZES et al., 2020).

Dentre os compostos químicos mais utilizados na Odontologia, a clorexidina é um dos mais potentes e que se tem mais estudos sobre, sendo considerado padrão ouro em relação a outros agentes (HORTENSE et al., 2010). Contudo, o uso

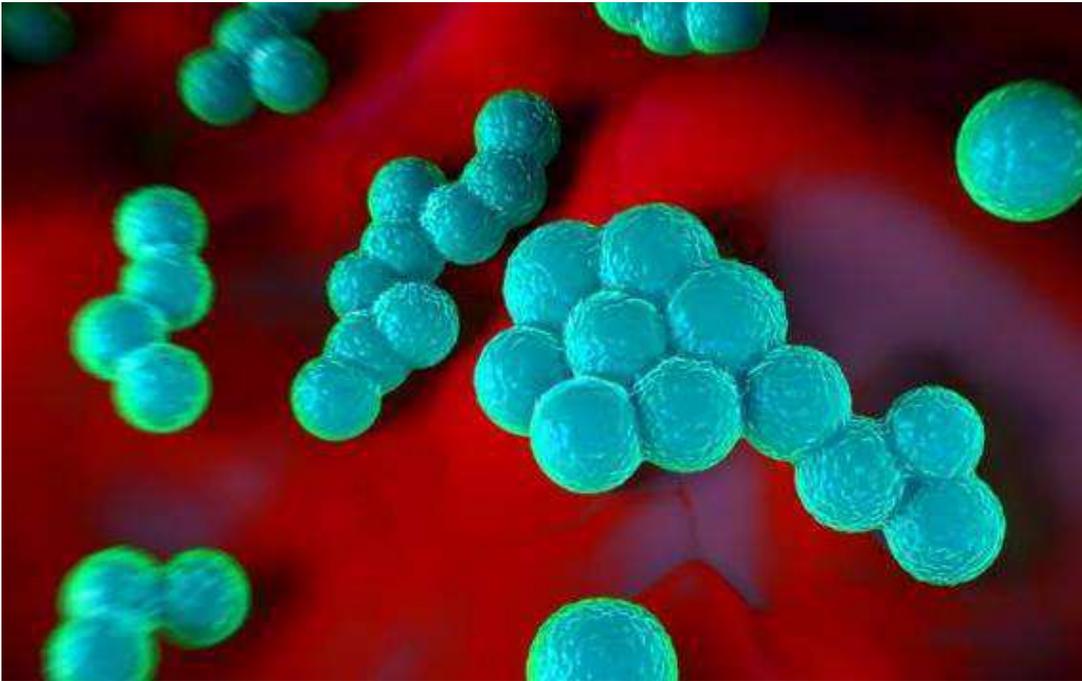
prolongado ou em altas doses desse composto apresenta efeitos adversos tais como manchamento dental e formação de cálculo (WANG; REN, 2017) e efeitos citotóxicos, como erosão da mucosa e distúrbios no paladar (BALAGOPAL; ARJUNKUMAR, 2013). Nesse cenário, novos produtos têm sido estudados, como alternativa à clorexidina, que apresentem menos efeitos secundários, entre eles, os fitoterápicos (BOTELHO et al., 2017).

## 2.2. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

*S. aureus* é uma bactéria Gram-positiva comensal, aeróbica ou anaeróbica facultativa, que pode se tornar patogênica para os humanos, responsável por uma ampla variedade de infecções clínicas, entre cáries dentárias, periodontite e, mais comumente, bacteremias e endocardite infecciosa (TONG SY et al., 2015).

Num estudo conduzido por Habib et al. (2015), que caracterizou morfológica e culturalmente cepas de *S. aureus* obtidas de diferentes animais cultivadas em Ágar sangue, Ágar nutriente e Ágar MacConkey, não foi possível detectar diferenças relevantes entre as espécies estudadas. As cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de seres humanos apresentaram a aparência de cocos, em pares ou pequenas cadeias, sem motilidade (Imagem 2), além de ter sido possível observar colônias circulares, suaves, pequenas e arredondadas, com margens inteiras no meio de cultura Ágar nutriente. Já em Ágar MacConkey não houve crescimento, enquanto que, em Ágar sangue, colônias  $\beta$  hemolíticas foram identificadas.

Imagem 2: colônia de *Staphylococcus aureus*.



Fonte: <https://www.bbc.com/portuguese/geral-47822876>

Devido à sua capacidade de desenvolver um biofilme que lhe confere uma maior resistência antimicrobiana, esse microrganismo tem atraído uma atenção considerável dos pesquisadores que buscam compreender sua capacidade de formação de biofilme através da categorização e quantificação *in vitro* dessa estrutura (SINGH et al., 2017).

A formação do biofilme se inicia com a adesão dessas bactérias em um substrato e uma posterior adesão entre as próprias células resultando em uma estrutura com várias camadas. Para que haja essa adesão intercelular é imprescindível a presença de uma adesina intercelular de polissacarídeo sintetizada pelo próprio microrganismo, de acordo com Yu et al. (2021). Tanto a capacidade de formar biofilme quanto a produção de uma adesina intercelular, garantem a essas bactérias uma alta taxa de virulência e resistência antimicrobiana (MCCARTHY et al., 2015)

### 2.3. ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleos essenciais são líquidos altamente concentrados, lipofílicos e voláteis extraídos de variados órgãos de plantas que possuem grande potencial antimicrobiano e antioxidante. Seu consumo tem aumentado quantitativamente no mercado nas últimas décadas, nas áreas de estética, alimentação e farmacêutica, principalmente, como uma alternativa aos produtos sintéticos que podem causar severos efeitos adversos (MANION, 2017; TONGNUANCHAN 2014). Os métodos convencionais de extração dos óleos essenciais envolvem a hidrodestilação, destilação a vapor, hidrodifusão e extração por solvente.

O uso dos óleos essenciais no campo farmacêutico é amplamente investigado e discutido, principalmente sobre suas propriedades como antiinflamatório, antimicrobiano, antiviral, anticancerígeno e de melhora da permeabilidade celular (AZIZ et al., 2018). Dessa forma, seu uso na Odontologia também tem sido vastamente introduzido e as pesquisas nesse campo têm aumentado consideravelmente.

Um exemplo desse produto natural com grande potencial para uso farmacêutico são as espécies do gênero *Eucalyptus*, planta pertencente à família *Myrtaceae*. De acordo com Bachir e Benali (2012), o óleo essencial de *E. globulus* possui capacidade de inibir as atividades bacterianas de cepas de *Escherichia coli* e *S. aureus*. Outros estudos sugerem um bom resultado entre a associação do óleo essencial de eucalipto com o cloridrato de clorexidina como antisséptico para pele (AZIZ et al., 2018).

O *E. globulus* é o óleo essencial do eucalipto mais comum para uso medicinal, já o *E. citriodora* é um óleo mais comum na perfumaria, sendo o eucalipto mais cultivado no Brasil. Os óleos essenciais de eucalipto para fins medicinais que representam o maior volume de cultivo e produção, mundialmente, são os da espécie *E. globulus* (VITTI; BRITO, 2003).

### 2.3.1. *Eucalyptus citriodora*

Segundo Vitti e Brito (2003), é uma árvore de porte médio que apresenta as cascas rosadas, quando tem origem na região Norte e cascas manchadas e copas mais espalhadas nas plantas que têm origem na região Sul. Elas se desenvolvem em vários tipos de solo e se diferenciam de outras plantas pelo odor de citronelal característico de suas folhas. É o eucalipto mais produzido no Brasil para obtenção de óleo essencial, com um rendimento que varia de 1 a 1,6%, o que significa que a cada tonelada de biomassa destilada das folhas pode-se extrair de 10 a 16 KG de óleo.

Possui como componente principal, o citronelal que serve como base para obtenção de citronelol, hidroxicitonelal e o mentol, nos casos em que seu óleo essencial não é comercializado puro.

### 2.3.2. *Eucalyptus globulus*

O *Eucalyptus globulus* possui quatro subespécies das quais é possível se obter óleo essencial, sendo elas *E. globulus* subespécie *bicostata*, *E. globulus* subespécie *globulus*, *E. globulus* subespécie *maidenii*, *E. globulus* subespécie *pseudoglobulus*.

O *E. globulus* subespécie *bicostata* e *E. globulus* subespécie *globulus* possuem uma forma que varia de pequenas árvores em mata aberta a árvores altas e com tronco denso em florestas mais densas. Já as subespécies *E. globulus* subsp. *maidenii* e *E. globulus* subsp. *Pseudoglobulus* são árvores de médio a grande porte, sendo essa última, a única ainda não cultivada em outros países. O óleo essencial obtido a partir das folhas dessa espécie possui rendimento que varia de 1,4 a 5,6 e seu componente principal é o 1,8-cineol (VITTI; BRITO, 2003).

Essa espécie é uma grande fonte de constituintes químicos, tais quais flavonóides, alcalóides, tanino e propanóides que podem ser obtidos das folhas, raízes e caule dessa planta que apresentam inúmeras propriedades farmacológicas como sua capacidade antiinflamatória, antibacteriana, antisséptica, antioxidante, antiaderente, adstringente, antiviral, dentre outras (RAHUL; SHILPA; AMANDEEP, 2020).

## REFERÊNCIAS

- ANSARI, G. et al. Comparing the effect of dry and wet brushing on dental plaque removal in children. **Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**, v. 37, n. 3, p. 292-296, 2019.
- AZIZ, Z. A. A. et al. Essential Oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential - a review. **Current Drug Metabolism**, v. 19, n. 13, p. 1100-1110, 2018.
- BACHIR, R. G.; BENALI, M. Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of Eucalyptus globulus against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [S.l.], v. 2, n. 9, p. 739-742, 2012.
- BALAGOPAL, S.; ARJUNKUMAR, R.. Chlorhexidine: The Gold Standard Antiplaque Agent. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, n. 12, p. 270-274, 2013.
- BELIBASAKIS, G. N.; CHARALAMPAKIS, G.; BOSTANCI, N.; STADLINGER, B. Peri-Implant Infections of Oral Biofilm Etiology. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, p. 69-84, 2014
- BOTELHO, M. P. J. et al. Avaliação in vitro da Atividade Antimicrobiana de Extrato Alcoólico de Própolis Comparado à Solução de Clorexidina 0,12%. **Journal of Health Sciences**, v. 19, n. 2, p. 95-97, 2017.
- BOWEN, W. H. et al. Oral Biofilms: pathogens, matrix, and polymicrobial interactions in microenvironments. **Trends in Microbiology**, v. 26, n. 3, p. 229-242, 2018.
- CANTARELLI, R. **Soluções colutórias a base de clorexidina e óleos essenciais em formulações com e sem álcool : uma análise microbiológica e de percepção gustativa**. 2015. 40 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.
- COSTALONGA, M.; HERZBERG, M. C. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. **Immunology Letters**. v. 162, n. 2, p. 22-38, 2014.
- DEWHIRST, F. E. et al. The Human Oral Microbiome. **Journal of Bacteriology**, v. 192, n. 19, p. 5002-5017, 2010.
- EI ASBAHANI, A. et al. Essential oils: from extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.
- HABIB, F. et al. Morphological and Cultural Characterization of Staphylococcus Aureus Isolated from Different Animal Species. **Journal of Applied Environmental and Biological Sciences**. v. 5, n. 2, p. 15-26, 2015.
- HORTENSE, S. R. et al. Uso da Clorexidina como agente preventivo e terapêutico na Odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 178-184, 2010.

JUNIOR, R.; JUNIOR, P. Composition and development of oral bacterial communities. **Periodontology** 2000, v. 64, n. 1, p. 20-39, 2013.

JEON, J-G. et al. Natural Products in Caries Research: current (limited) knowledge, challenges and future perspective. **Caries Research**, v. 45, n. 3, p. 243-263, 2011.

KAVANAUGH, J. S.; HORSWILL, A. R. Impact of Environmental Cues on Staphylococcal Quorum Sensing and Biofilm Development. **Journal of Biological Chemistry**, v. 291, n. 24, p. 12556-12564, 2016

LARSEN, T.; FIEHN, N-E. Dental biofilm infections - an update. **Apmis: Journal of Pathology, Microbiology and Immunology**, v. 125, n. 4, p. 376-384, 2017.

LAZAR, V.; CHIFIRIUC, M. C. Architecture and physiology of microbial biofilms. **Roumanian Archives of Microbiology and Immunology**, v. 69, n. 2, p. 95-107, 2010.

MANION, C. R.; WIDDER, R. M. Essentials of essential oils. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 74, n. 9, p. 153-162, 2017.

MCCARTHY, H. et al. Methicillin resistance and the biofilm phenotype in *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 5, n. 1, p. 1-5, 2015.

MENEZES, M. L. F. V. et al. A importância do controle do biofilme dentário: uma revisão da literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde / Electronic Journal Collection Health**, v. 55, n. [], p. 1-12, 2020.

O'DONNELL, L. E. et al. Dentures are a Reservoir for Respiratory Pathogens. **Journal of Prosthodontics: Implant, Esthetic and Reconstructive Dentistry**, v. 25, n. 2, p. 99-104, 2015

PETERSON, B. W. et al. Viscoelasticity of biofilms and their recalcitrance to mechanical and chemical challenges. **Fems Microbiology Reviews**, v. 39, n. 2, p. 234-245, 2015.

RAHUL, K., SHILPA, R., AMANDEEP, S. A review on phytochemistry and pharmacological activity of *Eucalyptus globulus*. **International Journal of Pharmacy Research**, v.11, n.2, p. 30-36, 2020.

SAHNI, K. et al. Exploring Mechanisms of Biofilm Removal. **Dentistry**, v. 06, n. 04, 2016.

SANZ, M. et al. Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the Joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease. **Journal of Clinical Periodontology**,; v.44, n.18, p. 5-11, 2017.

SCHNURR, E. **Disbiose supragengival e o risco de doenças orais em pacientes colonizados por *Staphylococcus aureus***. 2019. 32 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Dentária, Cooperativa de Ensino Superior Politécnico Universitário, Gandra, 2019.

SILVA, D. P. da et al. An Update on the Sociomicrobiology of Quorum Sensing in Gram-Negative Biofilm Development. **Pathogens**, v. 6, n. 4, p. 51, 2017.

SINGH, A. K. et al. Standardization and classification of In vitro biofilm formation by clinical isolates of Staphylococcus aureus. **Journal of Global Infectious Diseases**, v. 9, n. 3, p. 93-101, 2017.

TONG S. Y., DAVIS J.S., EICHENBERGER E., HOLLAND T.L., FOWLER V.G.J. Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical Microbiology Reviews**. v.28, n.3, p.603-661, 2015.

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.. Essential Oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. **Journal Of Food Science**, v. 79, n. 7, p. 1231-1249, 2014.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J.O. Óleo essencial de eucalipto. **Documentos Florestais**, n. 17, p. 1-26, 2003.

WANG, H.; REN, D. Controlling Streptococcus mutans and Staphylococcus aureus biofilms with direct current and chlorhexidine. **Amb Express**, v. 7, n. 1, p. 4-5, 2017.

YU, J. et al. Antibiofilm activity of small-molecule ZY-214-4 against Staphylococcus aureus. **Frontiers In Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2021.

ZARCO, M.F.; VESS, T.J.; GINSBURG, G.S. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. **Oral Diseases: Leading in Oral, Maxillofacial, Head & Neck Medicine**, v. 18, n. 2, p. 109-120, 2011.

### 3. ARTIGO

#### **AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIADERENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eucalyptus globulus* E *Eucalyptus citriodora* CONTRA CEPA DE *Staphylococcus aureus***

EVALUATION OF THE NON-ADHERENT EFFECT OF THE ESSENTIAL OILS OF *Eucalyptus globulus* AND *Eucalyptus citriodora* AGAINST THE STRAIN OF *Staphylococcus aureus*

EVALUACIÓN DEL EFECTO NO ADHERENTE DE ACEITES ESENCIALES DE *Eucalyptus globulus* Y *Eucalyptus citriodora* CONTRA LA CEPA DE *Staphylococcus aureus*

#### **RESUMO**

**Introdução:** O biofilme dental é uma estrutura complexa formada a partir da adesão de variadas células microbianas à película adquirida sobre a estrutura dentária. Essas células se aderem umas às outras enquanto sintetizam uma matriz extracelular, se tornando uma comunidade altamente organizada, o que dificulta sua remoção e promove uma resistência aos antimicrobianos. A presença de *Staphylococcus aureus* no biofilme oral pode causar um desequilíbrio na microbiota facilitando o início de um processo de doença. O controle mecânico desse biofilme através da escovação e uso do fio dental é a melhor forma de prevenção, porém, o controle químico, com uso de produtos naturais, a exemplo dos óleos essenciais, tem ganhado ênfase na Odontologia pelo seu potencial antiaderente e antibacteriano. **Objetivo:** Dentro desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a capacidade antiaderente do *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Staphylococcus aureus*. **Resultados:** Foi possível observar que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* inibiu a formação do biofilme com uma Concentração Inibitória Mínima de Aderência semelhante ao digluconato de clorexidina 0,12%, ambos de 1:8. O óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* não impediu a aderência bacteriana às paredes do tubo em nenhuma concentração avaliada. **Conclusão:** Pode-se concluir que apenas o óleo essencial da espécie *Eucalyptus globulus* possui atividade antiaderente contra *Staphylococcus aureus*, podendo ser utilizado como produto alternativo para controle do biofilme.

Descritores: Biofilme dentário; Óleos essenciais; Fitoterapia.

## ABSTRACT

**Introduction:** Dental biofilm is a complex structure formed from the adhesion of various microbial cells to the film acquired on the dental structure. These cells adhere to each other while synthesizing an extracellular matrix, becoming a highly organized community, which makes it difficult to remove and promotes resistance to antimicrobials. The presence of *Staphylococcus aureus* in the oral biofilm can cause an disturb in the microbiota, facilitating the beginning of a disease process. The mechanical control of this biofilm through brushing and flossing is the best form of prevention, however, chemical control with the use of natural products such as essential oils, has gained emphasis in Dentistry due to its non-adherent and antibacterial potential. **Objective:** In this context, the present study aimed to evaluate the non-adherent ability of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus citriodora* against *Staphylococcus aureus* strains. **Results:** It was possible to observe that the essential oil of *Eucalyptus globulus* inhibited the formation of the biofilm with a Minimum Adhesive Inhibitory Concentration similar to 0.12% chlorhexidine digluconate, both of 1:8. The essential oil of *Eucalyptus citriodora* did not prevent bacterial adherence to the tube walls in any evaluated concentration. **Conclusion:** It can be concluded that only the essential oil of the species *Eucalyptus globulus* has non-adherent activity against *Staphylococcus aureus* and can be used as an alternative product to control the biofilm.

Descriptors: Dental biofilm; Essential oils; Phytotherapy.

## RESUMEN

**Introducción:** El biofilme dental es una estructura compleja formada por la adhesión de varias células microbianas a la película adquirida en la estructura dental. Estas células se adhieren entre sí mientras sintetizan una matriz extracelular, convirtiéndose en una comunidad altamente organizada, lo que dificulta su eliminación y promueve la resistencia a los antimicrobianos. La presencia de *Staphylococcus aureus* en el biofilme oral puede provocar un desequilibrio en la microbiota, facilitando el inicio de un proceso patológico. El control mecánico de esta biopelícula mediante el cepillado y el uso de hilo dental es la mejor forma de prevención, sin embargo, el control químico, con el uso de productos naturales, como los aceites esenciales, ha

ganado énfasis en Odontología por su potencial antiadherente y antibacteriano. **Objetivo:** En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad antiadherente de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus citriodora* frente a cepas de *Staphylococcus aureus*. **Resultados:** Se pudo observar que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* inhibido la formación del biofilm con una Concentración Mínima Inhibidora de Adhesivo similar al 0,12% de digluconato de clorhexidina, ambos de 1: 8. El aceite esencial de *Eucalyptus citriodora* no evitó la adherencia bacteriana a las paredes del tubo en ninguna concentración evaluada. **Conclusión:** Se puede concluir que solo el aceite esencial de la especie *Eucalyptus globulus* tiene actividad antiadherente frente a *Staphylococcus aureus*, pudiendo utilizarse como producto alternativo para el control del biofilm.

Descriptores: Biopelícula dental; Aceites esenciales, Fitoterapia.

## INTRODUÇÃO

O biofilme é definido como uma comunidade sésil de células microbianas fortemente aderidas a um substrato ou a uma superfície, composto por uma ou múltiplas espécies, embebidas em uma matriz de polímeros extracelular produzidas por elas mesmas (BOWEN<sup>1</sup> et al., 2018). Estes microorganismos se comunicam através de sinais emitidos a partir das células num mecanismo denominado *quorum sensing* (QS) (KAVANAUGH<sup>2</sup> et al., 2016). Esta organização e composição do biofilme oral garantem uma estabilidade física que dificulta sua remoção e promove a resistência aos antimicrobianos (PETERSON<sup>3</sup> et al., 2015).

O biofilme dental se estabelece primeiramente em áreas mais estáveis do elemento dental onde as bactérias são mais protegidas do acesso à remoção mecânica, tais como as regiões interproximais, superfícies oclusais e, supragengivalmente, ao longo da margem gengival (LARSEN; FIEHN<sup>4</sup>, 2017). As células organizadas em biofilmes possuem uma taxa metabólica mais eficiente, exibindo maior resistência às fontes de estresse, como mecanismos de defesa do hospedeiro (BOWEN<sup>1</sup> et al., 2018).

Os gêneros e espécies predominantes na boca variam muito para cada indivíduo, sendo as bactérias do gênero *Staphylococcus*, um dos tipos que comumente podem ser encontrados. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é uma

bactéria Gram-positiva, comumente associada a diversas infecções sistêmicas e localizadas (WANG<sup>5</sup>, 2017), mas também tem demonstrado uma forte relação com infecções em implantes dentários (BELIBASAKIS<sup>6</sup> et al., 2014). Estes têm sido apontados como possíveis reservatórios desses microrganismos que são potencialmente patogênicos para causar infecções respiratórias (ODONNELL<sup>7</sup> et al., 2015).

A presença de *S. aureus* oral pode desregular a relação simbiótica benéfica entre o hospedeiro e a comunidade de microrganismos que ocorre num biofilme associado à saúde (SCHNURR<sup>8</sup>, 2019). O desequilíbrio da homeostasia e das respostas imune e inflamatória está diretamente associado a uma maior diversidade microbiana no biofilme. Quando isso ocorre, microrganismos que não compõem a microbiota oral podem se aproveitar dessa alteração para se integrarem no biofilme. Neste caso, com o biofilme dental desequilibrado, se inicia e se sustenta um processo de doença (SANZ<sup>9</sup> et al., 2017; SCHNURR<sup>8</sup>, 2019).

O controle regular do biofilme dentário através da escovação e uso do fio dental (método mecânico) e a complementação com compostos químicos compõem o principal fator de prevenção e tratamento dessas doenças (SAHNI<sup>10</sup> et al., 2016). Em situações nas quais a remoção mecânica do biofilme é insatisfatória, seja por falta de destreza manual, incapacidade motora ou casos de internação hospitalar, o método químico de controle se torna ainda mais necessário (CANTARELLI<sup>11</sup>, 2015).

Dentre os produtos químicos que podem ser utilizados como adjuvantes no controle do biofilme oral, estão os óleos essenciais que são substâncias voláteis que apresentam uma composição lipofílica, obtidos a partir de variados órgãos de plantas (El ASBAHANI<sup>12</sup> et al., 2015). Vários estudos demonstraram a capacidade antibacteriana e antiaderente desses produtos naturais (ALBUQUERQUE<sup>13</sup>, 2018). O eucalipto é uma das principais fontes de extração dos óleos essenciais cultivadas no Brasil, dentre as quais se destacam as espécies: *Eucalyptus globulus* (*E. globulus*), *Eucalyptus citriodora* (*E. citriodora*) e *Eucalyptus staigeriana* (*E. staigeriana*) (VITTI; BRITO<sup>14</sup>, 2003).

Diante da atividade antimicrobiana e do potencial antiaderente dos óleos essenciais extraídos a partir do eucalipto, que podem contribuir na prevenção da formação do biofilme dentário, o presente estudo avaliou a capacidade antiaderente do *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Staphylococcus aureus*.

## METODOLOGIA

### 5.1. ENSAIOS *IN VITRO*

#### 5.1.1. Substâncias-teste

Os óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* foram adquiridos da Indústria Quinarí® (Pinhais – PR)

#### 5.1.2. Espécie bacteriana e meio de cultura

Foi utilizada a bactéria de origem clínica *Staphylococcus aureus* (SA 101). A cepa foi mantida em meio Agar Mueller Hinton (AMH) a uma temperatura de 4 °C, sendo utilizada para os ensaios repiques de 24 horas em AMH incubado a 35 °C. No estudo da atividade antimicrobiana foi utilizado um inóculo bacteriano de aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL padronizado de acordo com a turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland. (CLEELAND, SQUIRES<sup>15</sup>, 1991; HADACEK, GREGER<sup>16</sup>, 2000).

#### 5.1.3. Determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA)

As Concentrações Inibitórias Mínimas de Aderência (CIMA) dos óleos foram determinadas na presença de sacarose a 5%, de acordo com Albuquerque et al., (2010), usando-se concentrações correspondentes ao óleo puro das espécies *E. globulus* e *E. citriodora* até a diluição 1:1024. A partir do crescimento bacteriano, a cepa de *Staphylococcus aureus* foi cultivada a 37°C em caldo Mueller Hinton (DIFCO, Michigan, Estados Unidos), depois, foram distribuídos 0,9 mL do subcultivo em tubos de ensaio e, em seguida, adicionado 0,1 mL da solução correspondente às diluições dos óleos essenciais. A incubação foi feita a 37°C por 24 horas com tubos inclinados a 30°. A leitura foi realizada através da observação visual da aderência da bactéria às

paredes do tubo, após a agitação do mesmo. O ensaio foi realizado em duplicata. O mesmo procedimento foi realizado para o controle positivo, o digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard®, Colgate-Palmolive Company, Nova York, EUA). Considerou-se a CIMA a menor concentração do agente em contato com sacarose que impediu a aderência ao tubo de vidro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir desse estudo revelaram que a menor concentração do óleo essencial do *Eucalyptus globulus* capaz de impedir a formação do biofilme bacteriano pelo *Staphylococcus aureus* foi de 1:8, o que representa a eficiência desse óleo contra a aderência bacteriana às paredes do tubo, evidenciando um resultado compatível ao digluconato de clorexidina 0,12%, que também apresentou uma inibição da formação do biofilme na concentração de 1:8.

Nas Tabelas 1 e 2 estão representados os resultados das Concentrações Inibitórias Mínimas de Aderência dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra a cepa de *Staphylococcus aureus*, respectivamente, além do controle digluconato de clorexidina a 0,12%.

Com os resultados descritos na Tabela 2 foi possível observar que o óleo de *Eucalyptus citriodora* não apresentou uma capacidade antiaderente contra a cepa de *Staphylococcus aureus* em qualquer concentração, o que é notável pela formação de biofilme nas paredes do tubo.

**Tabela 1.** Concentração Inibitória Mínima de Aderência em do Óleo essencial de *Eucalyptus globulus* e do digluconato de clorexidina 0,12% contra cepa de *Staphylococcus aureus*.

<b><i>Eucalyptus globulus</i></b>								
<b>Concentração</b>	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
	-	-	-	-	+	+	+	+
<b>Digluconato de Clorexidina 0,12%</b>								
<b>Concentração</b>	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
	-	-	-	-	+	+	+	+

Legenda: ( - ) Sem adesão à parede do tubo ( + ) Com adesão à parede do tubo

**Fonte:** Próprio autor (2021).

**Tabela 2.** Concentração Inibitória Mínima de Aderência do Óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e do digluconato de clorexidina 0,12% contra cepa de *Staphylococcus aureus*.

<b><i>Eucalyptus citriodora</i></b>								
<b>Concentração</b>	<b>1:1</b>	<b>1:2</b>	<b>1:4</b>	<b>1:8</b>	<b>1:16</b>	<b>1:32</b>	<b>1:64</b>	<b>1:128</b>
	+	+	+	+	+	+	+	+

<b>Digluconato de Clorexidina 0,12%</b>								
<b>Concentração</b>	<b>1:1</b>	<b>1:2</b>	<b>1:4</b>	<b>1:8</b>	<b>1:16</b>	<b>1:32</b>	<b>1:64</b>	<b>1:128</b>
	-	-	-	-	+	+	+	+

Legenda: ( - ) Sem adesão à parede do tubo ( + ) Com adesão à parede do tubo

**Fonte:** Próprio autor (2021).

Os efeitos antimicrobianos do *Eucalyptus globulus* já foram evidenciados em alguns estudos como o de Mota<sup>17</sup> et al. (2015), que, ao avaliarem *in vitro* a capacidade antibacteriana deste óleo essencial através do teste de difusão em ágar, observaram que ele apresentou uma inibição superior ao controle clorexidina 0,5% em relação ao microrganismo *Staphylococcus aureus*. O halo de inibição do óleo essencial chegou a 9 centímetros, enquanto o da clorexidina alcançou apenas 4 centímetros.

Já Rosa<sup>18</sup> et al. (2020) observou em seu estudo comparativo entre o óleo essencial e o extrato alcoólico do *Eucalyptus globulus* contra cepa do *Staphylococcus aureus* que o extrato revelou uma maior eficiência no controle da inibição do crescimento desta bactéria, com um halo de inibição de 22 milímetros frente aos 15 milímetros do óleo essencial.

Um estudo realizado por Oliveira<sup>19</sup> et al. (2006) investigou a interferência de alguns óleos essenciais, entre eles, o de *Eucalyptus citriodora*, sobre o efeito de antibióticos utilizados na clínica. Os resultados demonstraram que o óleo essencial de *E. citriodora* apresentou sinergismo com os antibióticos ampicilina, cloranfenicol e tetraciclina contra o *Staphylococcus epidermidis* e com a tetraciclina contra o *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Tal estudo demonstra um moderado potencial antimicrobiano contra diversos patógenos, porém ao ser testado quanto à sua capacidade antiaderente contra *Staphylococcus aureus* não obteve resultado positivo em qualquer concentração.

Em concordância com o resultado da presente pesquisa, Ramalho<sup>20</sup> et al. (2020) ao avaliarem as Concentrações Inibitórias Mínimas de Aderência dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra o microorganismo

*Klebsiella pneumoniae* concluíram que houve uma inibição da adesão à parede do tubo na concentração de 1:8 do *Eucalyptus globulus* comparado ao controle digluconato de clorexidina 0,12% que impediu a aderência microbiana na mesma concentração. Assim como o resultado do presente estudo, o óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* não apresentou atividade antiaderente em nenhuma concentração.

Um estudo conduzido por Ramalho<sup>21</sup> et al. (2020), onde avaliaram a capacidade antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra a cepa de *Escherichia coli*, corrobora em parte o presente trabalho por ter como resultado uma Concentração Inibitória Mínima de Aderência de 1:64 para ambos os óleos essenciais, significativamente superior ao digluconato de clorexidina 0,12%, que apresentou inibição numa concentração de 1:8. Demonstrando uma eficácia destes óleos contra a capacidade de aderência de determinadas cepas bacterianas e o seu potencial uso como alternativa terapêutica na prevenção da formação do biofilme bacteriano.

## CONCLUSÃO

Pode-se concluir, a partir dos resultados obtidos, que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* possui uma capacidade antiaderente contra *Staphylococcus aureus* equivalente ao digluconato de clorexidina 0,12%, o que salienta a possibilidade de seu uso como método alternativo favorecendo o emprego de produtos naturais, que tem o potencial de causar menos efeitos citotóxicos, na prática clínica. É importante, entretanto, que mais estudos sejam conduzidos com o objetivo expandir o conhecimento sobre o mecanismo de ação a fim de garantir o uso seguro destes produtos.

No entanto, o óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* não apresentou efeito positivo na inibição da aderência bacteriana em nenhuma das concentrações testadas para *Staphylococcus aureus*, apesar de revelar potencial antimicrobiano na literatura.

## REFERÊNCIAS

1. Bowen WH, Burne RA, Wu H, Koo H. Oral Biofilms: pathogens, matrix, and polymicrobial interactions in microenvironments. *Trends in Microbiology*. 2018;26(3):229-242.
2. Kavanaugh JS, Horswill AR. Impact of Environmental Cues on Staphylococcal Quorum Sensing and Biofilm Development. *Journal of Biological Chemistry*. 2016;291(24):12556-12564.
3. Peterson BW, He Y, Zerdoum A, Libera MR, Sharma PK, Winkelhoff AJV, et al. Viscoelasticity of biofilms and their recalcitrance to mechanical and chemical challenges. *Fems Microbiology Reviews*. 2015;39(2):234-245.
4. Larsen T, Fiehn NE. Dental biofilm infections - an update. *Apmis: Journal of Pathology, Microbiology and Immunology*. 2017;125(4):376-384.
5. Wang H, Ren D. Controlling *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus* biofilms with direct current and chlorhexidine. *Amb Express*. 2017;7(1):4-5.
6. Belibasakis GN, Charalampakis G, Bostanci N, Stadlinger B. Peri-Implant Infections of Oral Biofilm Etiology. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2014;830(1):69-84.
7. O'Donnell LEO, Smith K, Williams C, Nile CJ, Lappin DF, Bradshaw D, et al. Dentures are a Reservoir for Respiratory Pathogens. *Journal of Prosthodontics: Implant, Esthetic and Reconstructive Dentistry*. 2015;25(2):99-104.
8. Schnurr E. Disbiose supragengival e o risco de doenças orais em pacientes colonizados por *Staphylococcus aureus* [master's thesis]. Gandra: Curso de Medicina Dentária, Cooperativa de Ensino Superior Politécnico Universitário; 2019. 32 p.
9. Sanz M, Beighton D, Curtis MA, Cury JA, Dige I, Dommish H, et al. Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the Joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2017 44(18):5-11.
10. Sahni K, Kashai F, Forghany A, Krasieva T, Wilder-Smith P. Exploring Mechanisms of Biofilm Removal. *Dentistry*. 2016;6(4):371.
11. Cantarelli R. Soluções colutórias a base de clorexidina e óleos essenciais em formulações com e sem álcool: uma análise microbiológica e de percepção gustativa [master's thesis]. Porto Alegre: Curso de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2015. 40 p.

12. El Asbahani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Addi EHA, Casabianca H, et al. Essential oils: from extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015;483(1-2):220-243.
13. Albuquerque ACL, Pereira SAC, Pereira JV, Pereira LF, Furtado D, Macedo-Costa MR, et al. Efeito antiaderente do extrato da *Matricaria recutita* Linn. Sobre microorganismos do biofilme dental. *Revista de Odontologia da UNESP*. 2010;39(1):21-5.
14. Vitti AMS, Brito JO. Óleo essencial de eucalipto. *Documentos Florestais*. 2003;17(3):1-26.
15. Cleeland R, Squires E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infections. *Antibiotics in laboratory medicine*. 1991;3(1):739-787.
16. Hadacek F, Greger H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. *Phytochemical analysis*. 2000;11(3):137-147.
17. Mota VS, Turrini RNT, Poveda VB. Antimicrobial activity of *Eucalyptus globulus* oil, xylitol and papain: a pilot study. *Revista da Escola de Enfermagem da Usp*. 2015;49(2):0216-0220.
18. Rosa PVS, Everton GO, Pereira APM, Fonseca D, Cunha JCR, Mendonça IP, et al. Atividade bactericida do óleo essencial e extrato hidroalcoólico das folhas de *Eucalyptus globulus*. *Research, Society And Development*. 2020;9(7):1-22.
19. Oliveira RAG, Lima EO, Vieira WL, Freire KRL, Trajano VN, Lima IO, et al. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2006;16(1):77-82.
20. Ramalho MAS, Santos B, Ramalho DF, Cunha SMD, Anjos RM, Oliveira HMBF, et al. Atividade antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. *Research, Society And Development*. 2020;9(7):1-15.
21. Ramalho DF, Dantas EF, Ramalho MAS, Sousa AP, Oliveira HMBF, Filho AAO. Avaliação do efeito antiaderente dos óleos essenciais do *Eucalyptus citriodora* e do *Eucalyptus globulus* contra *Escherichia coli*. 1. ed. Rio de Janeiro: e-Publicar; 2020. 27 p.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante da possibilidade do uso de uma maior variedade de produtos naturais dentro da Odontologia, da necessidade de compostos que causem menos efeitos indesejados e do potencial antibacteriano e antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora*, essa pesquisa se fez relevante por avaliar a possibilidade de utilização dos óleos essenciais como método terapêutico alternativo ao combate à formação do biofilme.

Contudo, vale ressaltar que é importante que sejam realizados mais estudos com o objetivo de conhecer e garantir a segurança dos resultados, mecanismo de ação e possíveis efeitos adversos destes produtos.

## ANEXO A – NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA

### 1 de 8 Archives of Health Investigation

#### *Instruções aos Autores*

##### **1 Objetivos**

1.1 **Archives of Health Investigation** tem como missão publicar artigos científicos inéditos de pesquisa básica e aplicada, de divulgação e de revisão de literatura que constituam os avanços do conhecimento científico na área de Saúde, respeitando os indicadores de qualidade.

1.2 Também, a publicação de resumos de trabalhos apresentados em Reuniões ou Eventos Científicos relacionados à área de Saúde, sob a forma de suplementos especiais, como uma forma de prestigiar os referidos eventos e incentivar os acadêmicos à vida científica

##### **2 Itens Exigidos para Apresentação dos Artigos**

2.1 Os artigos enviados para publicação devem ser inéditos e não terem sido submetidos simultaneamente a outro periódico. A **Archives of Health Investigation** (Archi) reserva todo o direito autoral dos trabalhos publicados, inclusive tradução, permitindo sua posterior reprodução como transcrição com a devida citação da fonte.

2.2 Poderão ser submetidos artigos escritos em português, espanhol e inglês.

2.2.1 O trabalho poderá ser publicado em português, espanhol ou em inglês. O texto em espanhol ou inglês deverá vir acompanhado de documento que comprove que a revisão foi realizada por profissionais proficientes na língua espanhola ou inglesa. Todo artigo deverá vir acompanhado de resumos nas línguas inglesa, espanhola e portuguesa.

2.3 **Archives of Health Investigation** tem publicação bimestral e tem o direito de submeter todos os artigos a um corpo de revisores, que está totalmente autorizado a decidir pela aceitação, ou devolvê-los aos autores com sugestões e modificações no texto e/ou para adaptação às regras editoriais da revista.

2.4 Os conceitos afirmados nos trabalhos publicados são de inteira responsabilidade dos autores, não refletindo obrigatoriamente a opinião da Equipe Editorial e Editores Associados.

##### **3 Critérios de Análise dos Artigos**

3.1 Os artigos serão avaliados inicialmente quanto ao cumprimento das normas de publicação. Trabalhos não adequados e em desacordo com as normas serão rejeitados e devolvidos aos autores antes mesmo de serem submetidos à avaliação pelos revisores.

3.2 Os artigos aprovados quanto às normas serão submetidos à análise quanto ao mérito e método científico por, no mínimo, dois revisores de instituições distintas à de origem do trabalho, além de um membro do Corpo de Editores, mantendo-se o total sigilo das identidades dos autores e revisores. Quando necessária revisão, o artigo será devolvido ao autor correspondente para as alterações. A versão revisada deverá ser submetida novamente pelo(s) autor(es) acompanhada por uma carta resposta ("cover letter") explicando cada uma das alterações realizadas no artigo a pedido dos revisores. As sugestões que não forem aceitas deverão vir acompanhadas de justificativas convincentes. As alterações devem ser destacadas no texto do artigo em negrito ou outra cor. Quando as sugestões e/ou correções feitas diretamente no texto, recomenda-se modificações nas configurações do Word para que a identidade do autor seja preservada. O artigo revisado e a carta resposta serão inicialmente, avaliados pela Equipe Editorial e Editores Associados que os enviará aos revisores quando solicitado.

# Archives of Health Investigation

3.3 Nos casos de inadequação das línguas portuguesa, espanhola ou inglesa, uma revisão técnica por um especialista será solicitada aos autores.

3.4 A Equipe Editorial e os Editores Associados decidirão sobre a aceitação do trabalho, podendo, inclusive, devolvê-lo aos autores com sugestões para que sejam feitas as modificações necessárias no texto e/ou ilustrações. Neste caso, é solicitado ao(s) autor(es) o envio da versão revisada contendo as devidas alterações ou justificativas. Esta nova versão do trabalho será reavaliada pelo Corpo de Editores.

3.5 Nos casos em que o artigo for rejeitado por um dos dois revisores, a Equipe Editorial e os Editores Associados decidirão sobre o envio do mesmo para a análise de um terceiro revisor.

3.6 Nos casos de dúvida sobre a análise estatística esta será avaliada pela estatística consultora da revista.

3.7 Após aprovação quanto ao mérito científico, os artigos serão submetidos à análise final somente da língua portuguesa (revisão técnica) por um profissional da área.

#### **4 Correção das Provas dos Artigos**

4.1 A prova dos artigos será enviada ao autor correspondente por meio de e-mail com um link para baixar o artigo diagramado em PDF para aprovação final.

4.2 O(s) autor(es) dispõe de um prazo de 72 horas para correção e devolução do original devidamente revisado, se necessário.

4.3 Se não houver retorno da prova em 72 horas, o Corpo de Editores considerará como final a versão sem alterações, e não serão permitidas maiores modificações. Apenas pequenas modificações, como correções de ortografia e verificação das ilustrações serão aceitas. Modificações extensas implicarão na reapreciação pelos revisores e atraso na publicação do artigo.

4.4 A inclusão de novos autores não é permitida nessa fase do processo de publicação.

#### **5 Submissão dos Artigos**

Os artigos deverão ser submetidos on line ([www.archhealthinvestigation.com.br](http://www.archhealthinvestigation.com.br)). Todos os textos deverão vir acompanhados obrigatoriamente da "Carta de Submissão", do "Certificado do Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição" (quando cabível), bem como da "Declaração de Responsabilidade", da "Transferência de Direitos Autorais" e "Declaração de Conflito de Interesse" (documento explicitando presença ou não de conflito de interesse que possa interferir na imparcialidade do trabalho científico) assinado(s) pelo(s) autor(es). O manuscrito deverá ser enviado em dois arquivos Word, onde um deles deve conter o título do trabalho e respectivos autores; o outro deverá conter o título (português, espanhol e inglês), resumo (português, espanhol e inglês) e o texto do trabalho (artigo completo sem a identificação dos autores).

##### **5.1 Preparação do Artigo**

O texto, incluindo resumo, tabelas, figuras e referências, deverá estar digitado no formato "Word for Windows", fonte "Arial", tamanho 11, espaço duplo, margens laterais de 3 cm, superior e inferior com 2,5 cm e conter um total de 20 laudas, incluindo as figuras, tabelas e referências. Todas as páginas deverão estar numeradas a partir da página de identificação.

##### **5.1.1 Página de identificação**

A página de identificação deverá conter as seguintes informações:

## Archives of Health Investigation

- título em português, espanhol e inglês, os quais devem ser concisos e refletirem o objetivo do estudo.
- nome por extenso dos autores, com destaque para o sobrenome e na ordem a ser publicado, contendo nome do departamento e da instituição aos quais são afiliados, com a respectiva sigla da instituição, CEP (Código de Endereçamento Postal), cidade e país (Exemplo: Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, Faculdade de Odontologia, UNESP Univ. Estadual Paulista, 14801-903 Araçatuba - SP, Brasil);
- Endereço completo do autor correspondente, a quem todas as correspondências devem ser endereçadas, incluindo e-mail.

### 5.1.2 Resumo

Todos os tipos de artigos deverão conter resumo (português, espanhol e inglês) precedendo o texto, com no máximo de 250 palavras, estruturado em sessões: introdução, objetivo, material e método, resultados e conclusão. Nenhuma abreviação ou referências deverão estar presentes.

### 5.1.3 Descritores

Indicar, em número de 3 a 6, identificando o conteúdo do artigo, devendo ser mencionadas logo após o RESUMO. Para a seleção dos Descritores os autores deverão consultar a lista de assuntos do "MeSH Data Base (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>)" e os Descritores em Ciências da Saúde – DeCS (<http://decs.bvs.br/>). Deve-se utilizar ponto e vírgula para separar os descritores, que devem ter a primeira letra da primeira palavra em letra maiúscula.

### 5.1.4 Ilustrações e tabelas

As ilustrações (figuras, gráficos, desenhos, etc.), serão consideradas no texto como figuras, sendo limitadas ao mínimo indispensáveis e devem ser adicionadas em arquivos separados. Devem ser numeradas consecutivamente em algarismos arábicos segundo a ordem em que aparecem no texto. As figuras deverão ser anexadas ao e-mail do artigo, em cores originais, digitalizadas em formato tif, gif ou jpg, com no mínimo de 300dpi de resolução, 86 mm (tamanho da coluna) ou 180 mm (tamanho página inteira). As legendas correspondentes deverão ser claras, concisas e listadas no final do trabalho. As tabelas deverão ser logicamente organizadas e numeradas consecutivamente em algarismos arábicos. A legenda deve ser colocada na parte superior das mesmas. As tabelas deverão ser abertas nas laterais (direita e esquerda). As notas de rodapé deverão ser indicadas por asteriscos e restritas ao mínimo indispensável.

### 5.1.5 Citação de autores no texto

A citação dos autores no texto poderá ser feita de duas formas:

#### 5.1.5.1 Somente numérica:

*Exemplo:* Radiograficamente é comum observar o padrão de "escada", caracterizado por uma radiolucidez entre os ápices dos dentes e a borda inferior da mandíbula.<sup>8,10,11,13</sup> As referências devem ser citadas no parágrafo de forma sobrescrita e em ordem ascendente.

#### 5.1.5.2 Ou alfanumérica:

- um autor: Ginnan<sup>4</sup> (2006)
- dois autores: Tunga, Bodrumlu<sup>13</sup> (2006)
- três autores ou mais de três autores: Shipper et al.<sup>2</sup> (2004)

## Archives of Health Investigation

*Exemplo:* As técnicas de obturação utilizadas nos estudos abordados não demonstraram ter tido influência sobre os resultados obtidos, segundo Shipper et al.<sup>2</sup> (2004) e Biggs et al.<sup>5</sup> (2006), Shipper et al.<sup>2</sup> (2004), Tunga, Bodrumlu<sup>13</sup> (2006) e Wedding et al.<sup>18</sup> (2007),

### 5.1.6 Referências

As Referências deverão obedecer seguir aos requisitos "Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journals – Vancouver", para a submissão de manuscritos artigos a revistas biomédicas disponível em: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). Toda referência deverá ser citada no texto. Deverão ser ordenadas pelo sobrenome dos autores e numeradas na mesma sequência em que aparecem no texto.

#### Exemplo - Texto:

... de acordo com Verissimo et al.<sup>1</sup>, Raina et al.<sup>2</sup>, Stratton et al.<sup>3</sup>, Bodrumlu et al.<sup>4</sup> e Odonni et al.<sup>5</sup>, contrariando os resultados apresentados por Baumgartner et al.<sup>6</sup> onde ...

#### Referências:

1. Verissimo DM, Do Vale MS, Monteiro AJ. Comparison of apical leakage between canals filled with gutta-percha/AH plus and the Resilon/Epiphany system, when submitted to two filling techniques. *J Endod.* 2007;33:291-4.
2. Raina R, Loushine RJ, Wellwe RN, Tay FR, Pashje DHP. Evaluation of the quality of the apical seal in Resilon/Epiphany and gutta-percha/AH plus-filled root canals by using a fluid filtration approach. *J Endod.* 2007;33:944-7.
3. Stratton RK, Apicella MJ, Mines P. A fluid filtration comparison of gutta-percha versus Resilon, a new soft resin endodontic obturation system. *J Endod.* 2006;32:642-5.
4. Bodrumlu E, Tunga U, Alaçam T. Influence of immediate and delayed post space preparation on sealing ability of Resilon. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007;103:61-4.
5. Odonni PG, Mello I, Coil JM, Antoniazzi JB. Coronal and apical leakage analysis of two different root canal obturation systems. *Braz Oral Res.* 2008;22:211-5.
6. Baumgartner G, Zehnder M, Paqué F. Enterococcus faecalis type strain leakage through root canals filled with guttapercha/ AH plus or Resilon/Epiphany. *J Endod.* 2007;33:45-7.

Referência a comunicação pessoal, trabalhos em andamento e submetidos à publicação não deverão constar da listagem de referências. Quando essenciais essas citações deverão ser registradas no rodapé da página do texto onde são mencionadas.

Publicações com até seis autores, citam-se todos, separando um do outro com vírgula; acima de seis autores, citam-se os seis primeiros, separando um do outro com vírgula, seguido da expressão et al.

#### Exemplo

- seis autores:

Dultra F, Barroso JM, Carrasco LD, Capelli A, Guerisoli M, Pécora JD.

- Mais de 6 autores

Pasqualini D, Scotti N, Mollo L, Berutti E, Angelini E, Migliaretti G, et al.

#### Exemplos de referências

# Archives of Health Investigation

- Livro

Brunetti RF, Montenegro FLB. Odontogeriatrics: notions of clinical interest. São Paulo: Artes Médicas; 2002.

Gold MR, Siegal JE, Russell LB, Weintin MC, editors. Cost-effectiveness in health and medicine. Oxford, England: Oxford University Press; 1997. p. 214-21.

- Organização ou Sociedade como autor de livro

American Dental Association, Guide to dental materials and devices. 7th ed. Chicago: American Dental Association; 1974.

- Documentos legais

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n° 79 de 28 de agosto de 2000. DO 169 de 31/08/2000. p. 1415-537.

- Artigo de periódico

Hetem S, Scapinelli CJA. Efeitos da ciclofamida sobre o desenvolvimento do germe dental "in vitro". Rev Odontol UNESP. 2003;32:145-54.

Os títulos dos periódicos deverão ser referidos de forma abreviada, sem negrito, itálico ou grifo, de acordo com o Journals Data Base (PubMed) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/journals>), e para os periódicos nacionais verificar em Portal de Revistas Científicas em Ciências da Saúde da Bireme (<http://portal.revistas.bvs.br/?lang=pt>).

A exatidão das referências constantes da listagem e a correta citação no texto são de responsabilidade do(s) autor(es) do artigo. Citar apenas as referências relevantes ao estudo.

## **6 Princípios Éticos e Registro de Ensaios Clínicos**

### 6.1 Procedimentos experimentais em animais e humanos

*Estudo em Humanos:* Todos os trabalhos que relatam experimentos com humanos ou que utilize partes do corpo ou órgãos humanos (como dentes, sangue, fragmentos de biópsia, saliva, etc...) devem seguir os princípios éticos estabelecidos e ter documento que comprove sua aprovação por um Comitê de Ética em Pesquisa em seres Humanos (registrado na CONEP) da Instituição do autor ou da Instituição onde os sujeitos da pesquisa foram recrutados, conforme Resolução 196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde.

*Estudo em Animais:* Em pesquisas envolvendo experimentação animal é necessário que o protocolo tenha sido aprovado pelo Comitê de Pesquisa em Animais da Instituição do autor ou da Instituição onde os animais foram obtidos e realizado o experimento.

*Casos clínicos:* Deve-se evitar o uso de iniciais, nome e número de registro de pacientes. O uso de qualquer designação em tabelas, figuras ou fotografias que identifique o indivíduo não é permitido, a não ser que o paciente ou responsável expresse seu consentimento por escrito (em anexo modelo). O Editor Científico e o Conselho Editorial se reservam o direito de recusar artigos que não demonstrem evidência clara de que esses princípios foram seguidos ou que, ao julgamento dos mesmos, os métodos empregados não foram apropriados para o uso de humanos ou animais nos trabalhos submetidos a este periódico.

# Archives of Health Investigation

**7. Casos Omissos:** serão resolvidos pela Equipe Editorial e Editores Associados.

## 8. Apresentação dos Artigos

Os artigos originais deverão apresentar:

- **Introdução:** Explicar precisamente o problema, utilizando literatura pertinente, identificando alguma lacuna que justifique a proposição do estudo. No final da introdução deve ser estabelecida a hipótese a ser avaliada.
- **Material e método:** Deve ser apresentado com detalhes suficientes para permitir a confirmação das observações e possibilitar sua reprodução. Incluir cidade, estado e país de todos os fabricantes depois da primeira citação dos produtos, instrumentos, reagentes ou equipamentos. Métodos já publicados devem ser referenciados, exceto se modificações tenham sido feitas. No final do capítulo descrever os métodos estatísticos utilizados.
- **Resultado:** Os resultados devem ser apresentados seguindo a seqüência do Material e método, com tabelas, ilustrações, etc. Não repetir no texto todos os dados das tabelas e ilustrações, enfatizando somente as observações importantes. Utilizar o mínimo de tabelas e ilustrações possível.
- **Discussão:** Os resultados devem ser discutidos em relação à hipótese testada e à literatura (concordando ou discordando de outros estudos, explicando os resultados diferentes). Devem ser destacados os achados do estudo e não repetir dados ou informações citadas na introdução ou resultados. Relatar as limitações do estudo e sugerir estudos futuros.
- **Conclusão:** As conclusões devem ser coerentes com os objetivos, extraídas do estudo, não repetindo simplesmente os resultados.
- **Agradecimentos:** (quando houver) - agradeça pessoas que tenham contribuído de maneira significativa para o estudo. Especifique auxílios financeiros citando o nome da organização de apoio de fomento e o número do processo.

Revisão de literatura:

**Archives of Health Investigation** só aceita revisão de literatura sistemática, com ou sem meta-análise no formato e estilo Cochrane quando aplicável. Para maiores informações consultar [www.cochrane.org](http://www.cochrane.org). As revisões de literatura deverão contemplar assuntos atuais e de relevância para a área. Existem na literatura diversos exemplos deste tipo de revisão.

## 9. Relato de casos clínicos

- **Resumo** (português, espanhol e inglês): Deverá conter um sumário do artigo em um único parágrafo
- **Introdução:** deve conter uma explicação resumida do problema citando somente referências relevantes e a proposição.
- **Descrição do caso clínico:** Relatar o caso, destacando o problema, os tratamentos disponíveis e o tratamento selecionado. Descrever detalhadamente o tratamento, o período de acompanhamento e os resultados obtidos. O relato deve ser realizado no tempo passado e em um único parágrafo.
- **Discussão:** Comentar as vantagens e desvantagens do tratamento, etc. Se o texto ficar repetitivo omitir a discussão.

# Archives of Health Investigation

## 10. Descrição de técnicas

- Resumo (português, espanhol e inglês): Deverá conter um sumário do artigo em um único parágrafo
- Introdução: Apenas um resumo da literatura relevante que colabore com a padronização da técnica ou protocolo a serem apresentados.
- Técnica: Deve ser apresentada passo a passo.
- Discussão: Comentar as vantagens e desvantagens da técnica. Indicar e contra indicar a técnica apresentada. Se o texto ficar repetitivo omitir a discussão.
- Abreviaturas, Siglas e Unidades de Medida: para unidades de medida, deverão ser utilizadas as unidades legais do Sistema Internacional de Medidas. Nomes de medicamentos e materiais registrados, bem como produtos comerciais, deverão aparecer entre parênteses, após a citação do material, e somente uma vez (na primeira).

## Termo de Consentimento

Eu, \_\_\_\_\_ responsáveis legais de \_\_\_\_\_  
 autorizo a publicação dos dados e fotografias do tratamento realizado e que fará parte do artigo intitulado

\_\_\_\_\_ de autoria de \_\_\_\_\_  
 na **Archives of Health Investigation**.

Datar e assinar

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

## Termo de Consentimento

Eu, \_\_\_\_\_ autorizo a publicação dos dados e fotografias do  
 tratamento realizado e que fará parte do artigo intitulado

\_\_\_\_\_ de autoria de \_\_\_\_\_  
 na **Archives of Health Investigation**.

Datar e assinar

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

# Archives of Health Investigation

## Carta de Submissão, Responsabilidade e Transferência de Direitos Autorais

Prezado Editor,

Encaminho o artigo intitulado

de autoria \_\_\_\_\_ para análise  
e publicação na **Archives of Health Investigation**.

Por meio deste documento, transfiro para **Archives of Health Investigation**, os direitos autorais a ele referente(s) que tornar-se-ão propriedade exclusiva da mesma, sendo vedada qualquer reprodução total ou parcial, em qualquer outra parte ou meio de divulgação impressa, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e obtida por escrito junto à Comissão Editorial da Revista.

Certifico que o manuscrito é um trabalho de pesquisa original, e o seu conteúdo não está sendo considerado para publicação em outras revistas, seja no formato impresso ou eletrônico, reservando-se os direitos autorais do mesmo para a referida revista. A versão final do trabalho foi lida e aprovada por todos os autores. Certifico(amos) que participei(amos) suficientemente do trabalho para tornar pública minha (nossa) responsabilidade pelo seu conteúdo.

Datar e assinar

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

**Observação:** Os co-autores, juntamente com o autor principal, devem assinar a declaração de responsabilidade acima, configurando, também, a mesma concordância dos autores do texto enviado e de sua publicação se aceito pela **Archives of Health Investigation**

## Declaração de Inexistência de Conflito de Interesses

Os autores abaixo assinados do manuscrito intitulado "....." declaram à Revista **Archives of Health Investigation** a inexistência de conflito de interesses em relação ao presente artigo.

Cidade, UF, data.