

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

JOSÉ LUCAS MEDEIROS TORRES

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE *SCAFFOLDS* DE
QUITOSANA INCORPORADOS AOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ORÉGANO E
TOMILHO CONTRA CEPAS DE *Enterococcus faecalis* E *Escherichia coli***

**PATOS/PB
2023**

JOSÉ LUCAS MEDEIROS TORRES

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE *SCAFFOLDS* DE QUITOSANA INCORPORADOS AOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ORÉGANO E TOMILHO CONTRA CEPAS DE *Enterococcus faecalis* E *Escherichia coli*

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

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho.

**PATOS/PB
2023**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado Bibliotecas – SISTEMOTECA/UFCG

T693a

Torres, José Lucas Medeiros

Avaliação do potencial antibacteriano de *Scaffolds* de quitosana incorporados aos óleos essenciais de orégano e tomilho contra cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli* / José Lucas Medeiros Torres. – Patos, 2023.
65f.

Orientador: Abrahão Alves de Oliveira Filho.

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

1. Fitoterapia. 2. Materiais biocompatíveis. 3. Odontologia. I. Oliveira Filho, Abrahão Alves de, *orient.* II. Título.

CDU 616.314:633.88

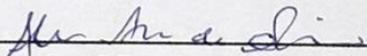
JOSÉ LUCAS MEDEIROS TORRES

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE *SCAFFOLDS* DE QUITOSANA INCORPORADOS AOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ORÉGANO E TOMILHO CONTRA CEPAS DE *Enterococcus faecalis* E *Escherichia coli*

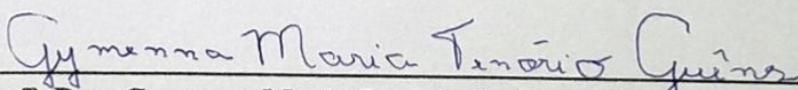
Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título Bacharel em Odontologia.

Aprovado em: 21/04/23

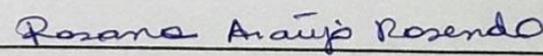
BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dra. Gymenna Maria Tenório Guênes – 1º membro
Universidade Federal De Campina Grande – UFCG



Prof. Dra. Rosana Araújo Rosendo - 2º membro
Universidade Federal De Campina Grande - UFCG

Dedico este trabalho a Deus, o meu refúgio e fortaleza, e aos meus amados pais, Mônica Maria Fernandes de Medeiros Torres e Luiz Gomes Torres Neto, por todas as incansáveis batalhas e esforços que travaram para que este sonho se concretizasse.

AGRADECIMENTOS

Assim como retalhos, essa realização é fruto de pedaços coloridos de cada momento vivenciado até aqui. Alguns felizes, outros nem tanto. Mas todos eles foram responsáveis por acrescentar algo na minha história e me fizeram ser quem sou. Em cada retalho uma vida, uma lição, um sorriso, uma saudade. Foram estes pequenos e numerosos retalhos que me tornaram mais humano e íntegro. Venci muitas batalhas, resolvi muitos problemas, sorri muito, senti a felicidade da vida. Mas também perdi algumas lutas, derramei algumas lágrimas e me vi sozinho em alguns momentos. Eu acredito que parte do crescimento é sobre manter e deixar ir, saber quais coisas manter e quais coisas deixar ir. Você não pode carregar tudo. Hoje compreendo que todos estes momentos foram importantes ao longo da minha vida.

No decorrer da nossa trajetória ouvimos muitas promessas de que as coisas vão melhorar. Mas independente do que aconteça, devemos seguir em frente. Só devemos continuar vivendo. Porque mesmo no pior dia, existem pessoas que nos amam, há lugares esperando para serem visitados ou existe alguma coisa que nunca vimos antes e que vai nos transmitir felicidade. Mesmo no pior dia, a vida é uma coisa espetacular.

Então hoje eu quero agradecer em primeiro lugar a Deus, por ser meu refúgio e fortaleza durante toda a minha vida, em especial nestes últimos cinco anos. Ao longo da graduação passei por grandes tribulações, as quais sem a graça divina eu não teria sido capaz de continuar de pé. Sou grato a Ele pela força concedida a mim, por nunca ter me abandonado e, principalmente, por ser a luz do meu caminho e o guia dos meus passos. Inúmeras foram as vezes em que voltei meu olhar ao céu como momentos íntimos entre um Pai e um filho, muitas delas com o coração cheio de angústias e medos, mas foram nestas horas que pude perceber que nunca estive sozinho. Obrigado por ser meu amparo, meu Pai!

A Nossa Senhora do Carmo, por ser minha madrinha, minha mãe e por nunca ter me deixado desamparado. Em todas as minhas súplicas Ela me acolheu com um amor incomensurável. Esteve presente em todos os momentos, fossem eles felizes ou de aflição. Protegeu-me e livrou-me de todos os males, cobrindo-me com seu santo manto de proteção.

À minha mãe, Mônica Maria Fernandes de Medeiros Torres, pelo seu grande apoio e incentivo ao longo de toda a minha vida e, especialmente, durante a minha graduação. Sem seu esforço árduo eu jamais teria conseguido. Foi por meio da sua luta que consegui adquirir as numerosas listas de materiais, me sustentar em outra cidade totalmente desconhecida, distante de seus cuidados, e vencer com maestria essa etapa tão significativa. Passamos por muitos momentos de dificuldades durante estes cinco anos. Não foi nada fácil. Algumas

provações foram tão difíceis que, por vezes, pensei que o melhor fosse desistir, mas a senhora tomou à frente de tudo e as enfrentou junto a mim. Essa vitória não é apenas minha, mãe. Essa vitória é nossa. À senhora, todas as minhas conquistas até aqui e daqui por diante, durante todos os dias de minha vida. Sempre serei grato por todos os seus ensinamentos, amor e proteção.

Ao meu pai, Luiz Gomes Torres Neto, por ser meu maior exemplo de honestidade, humildade e força. Mesmo sendo agricultor, trabalhando dia após dia na roça, acordando todos os dias de madrugada para ir ao sítio trabalhar, debaixo de sol e de chuva, sem ao menos um dia para descanso. O senhor jamais deixou faltar algo para mim e jamais desistiu de mim. Hoje estou realizando um sonho que não é apenas meu, mas um sonho nosso. O senhor conseguiu, pai! Formou seus dois filhos com muito suor e determinação. Mesmo diante de tantas dificuldades, tantos abraços de “até logo”, tanto tempo distante dos seus cuidados, o senhor me passou forças para continuar lutando por um futuro melhor. Minha eterna gratidão e respeito ao senhor, eu o amo infinitamente.

À minha irmã, Luanna Torres de Medeiros, por ser meu abrigo, minha fortaleza, meu maior orgulho. Obrigado pelo seu companheirismo nos momentos difíceis e alegres, por ter sido meu porto seguro quando mais precisei. Passamos por muitos momentos difíceis, mas em nenhum deles soltamos as mãos um do outro, permanecemos juntos como verdadeiros irmãos. Dedico esta vitória a você, meu amor. Esse sonho não estaria sendo realizado sem sua participação.

À minha bisavó, Maria do Socorro Fernandes (*in memoriam*), à qual tive a honra de compartilhar momentos incríveis da minha vida. Uma fonte de sabedoria, fé e bondade. Queria poder estar compartilhando esse momento em vida com a senhora, mas sei que seu cuidado e carinho permanecem e sempre permanecerão em meu coração. Obrigado por todas as bênçãos e boas gargalhadas, minha eterna “bivó”.

Aos meus avós, Ana Cleide Medeiros Fernandes e José Fernandes (avós maternos), João Torres Sobrinho e Maria Rodrigues Torres (avós paternos), por serem minha fortaleza, minhas razões para sorrir, minha fonte inesgotável de amor. Guardo sempre em meu coração todos os nossos momentos felizes, sejam em festas no sítio Guirra ou no muro de vó, os almoços em família, as conversas alegres nas calçadas ou nos sofás após o almoço, dentre tantos outros momentos. Vocês são meus pais e mães em dobro. Toda a minha formação enquanto ser humano, homem e profissional humanizado eu devo a vocês. Sou grato a Deus por tê-los comigo, compartilhando esse momento tão especial, fazendo parte dessa etapa tão linda. Como é grande o meu amor por vocês, meus avós!

Aos demais familiares (tios, tias, primos, primas, padrinhos e madrinhas), que sempre se fizeram presentes na minha vida, seja com orações ou com apoio material, meu muito obrigado por tudo. Tenho consciência de que sempre buscamos nos apoiar em nossas necessidades. E as muitas lutas travadas nesta caminhada terrena serviram sempre para nos unir e entender que juntos conseguimos superar todas as dificuldades.

Aos meus amigos, que me ajudaram de forma direta ou indireta ao longo da graduação, muitas vezes ouvindo, aconselhando ou até entendendo as ausências em decorrência de alguma atividade do semestre letivo, muito obrigado. Agradeço ainda pelas orações, que com certeza me sustentaram até aqui, dando-me forças para resistir a todas as adversidades encontradas. Não citarei nominalmente, para não cometer o ato falho de esquecer alguém. Mas, os trago no coração e os entrego em minhas orações.

A Teotônio Lucas Sabino Fernandes, meu anjo da guarda, a pessoa que mais me acalmou e aguentou meus estresses em momentos dolorosos ao longo da graduação. Você foi uma das pessoas que mais me ouviu quando precisei, que me amparou de todas as formas possíveis, nunca me deixou sozinho e transformou minhas tristezas em alegria. Com você pude aprender lições valiosas que levarei para toda a minha vida. Obrigado por tudo e por tanto. Jamais teria conseguido vencer essa etapa sem sua ajuda, sem seu apoio. Sou imensamente grato por tudo o que fez por mim.

Ao meu grupinho de estudos da graduação, o qual sentirei imensas saudades, Emmily Nauany Silvino Diniz, Jéssika Guilherme de Almeida Gonçalves e Mirelly Morgana de Almeida Melo. Vocês foram minhas companheiras nos momentos difíceis e alegres, nos momentos terríveis de ansiedade e nervosismo pré-prova e nos momentos de risadas ou descontração pós-prova, nas calouradas saudáveis e não tão saudáveis. Em todos os momentos vocês estiveram ao meu lado, me ajudaram a amenizar as tristezas, foram a minha calma nas tribulações. Obrigado por dividirem comigo o peso desta caminhada, por serem minha segunda família em Patos. Nós somos o reflexo das pessoas com quem convivemos, e com vocês eu pude me moldar e amadurecer de uma forma incrível.

Ao Laboratório de Bioensaios (LBIO/UFCG). Meus mais sinceros agradecimentos a este grupo de pesquisa repleto de professoras e alunos sonhadores, que abriu portas para oportunidades que eu jamais poderia imaginar. Espero ter sido um membro exemplar e que futuramente possamos colher bons frutos das nossas pesquisas. Saiba que de mim não faltou disciplina, estudos e vontade de melhorar. Não tenho dúvidas que minha passagem pelo LBIO somou muito à minha graduação. Minha eterna gratidão ao trio implacável de professoras excepcionais que sempre estiveram à frente deste sonho: Rosana, Luanna e Elizandra.

À Liga Acadêmica de Fitoterapia, Bioquímica e Microbiologia (LAFBIM/UFCG). Foi um grande privilégio ter feito parte desta liga tão enriquecedora. Minha eterna gratidão ao professor Abrahão Alves de Oliveira Filho, pelo trabalho de excelência à frente dessa família e a todos os seus integrantes pela vontade de ensinar e aprender. Vocês despertaram em mim o desejo pela pesquisa, o que com certeza me fez crescer na vida acadêmica. Sou imensamente grato a todos.

À Liga Acadêmica de Cirurgia (LAC/UFCG), à qual tive o prazer de fazer parte. A cirurgia sempre foi uma das áreas que mais me despertou interesse na Odontologia e ter esse contato mais íntimo na graduação foi um diferencial significativo. Minha gratidão a todos os ligantes pelo compartilhamento de experiências e conhecimentos. Meus agradecimentos e respeito, em especial, ao mestre Julierme Ferreira Rocha por conduzir com maestria esse projeto, pelo acolhimento e compartilhamento de cada técnica operatória e pela oportunidade de cada procedimento realizado. Não há dúvidas de que a LAC foi uma das minhas melhores escolhas da graduação e um dos meus maiores motivos de orgulho.

Ao meu professor e orientador Abrahão Alves de Oliveira Filho, meu muito obrigado por tudo o que fez por mim. Obrigado por me acolher como um filho na graduação, por toda a confiança e autonomia que me concedeu, pela paciência para ensinar e por me amadurecer como pesquisador. Muito obrigado por ser essa pessoa amorosa, serena, humana e solidária com seus alunos, com o qual sempre me senti muito acolhido e representado. Mesmo quando as dificuldades pareciam impossíveis de serem resolvidas, o senhor nos mostrou soluções, sempre acalmando os membros da LAFBIM nos momentos de tensão. Tenho muito orgulho de ter feito parte dessa liga acadêmica, ou melhor, dessa família. Saiba que de mim não faltou interesse, disciplina, coragem e vontade em crescer, principalmente devido ao potencial que você desperta nos seus alunos. Tenho pleno conhecimento do meu privilégio em ter sido seu orientando, espero ter honrado com sua escolha. Serei sempre grato a você. Muito obrigado.

À professora Rosana Araújo Rosendo (minha eterna Rosinha), mentora, mãe e amiga. Uma inspiração para todos que passam pelo curso de Odontologia da UFCG. Seu amor pela odontologia exala inspiração para nós alunos. Nunca me faltou um abraço ou palavras de incentivo quando estive ao seu lado e, mesmo quando pensei que não era capaz, a senhora me deu forças e motivos para continuar lutando. Obrigado pelos ensinamentos, a boa risada, a amizade e, sobretudo, por ensinar a cuidar dos pacientes com humanidade, carinho e acolhimento. Levarei todas essas filosofias comigo para sempre. Serei eternamente grato pela oportunidade de participar do Laboratório de Bioensaios (LBIO/UFCG). Jamais me esquecerei de sua consideração por mim e por todo o acolhimento que recebi durante a

graduação, a senhora é um exemplo de profissional e ser humano. Obrigado por tudo, minha professora/mãe.

À professora Gymenna Maria Tenório Guênes, minha maior fonte de inspiração durante a graduação. Minha eterna gratidão por todo carinho, confiança, incentivo e acolhimento. A senhora sempre me enxergou como um aluno que poderia crescer profissionalmente e nunca desistiu de mim. Jamais poderia deixar de agradecer a quem me abraçou e me inspirou a seguir a carreira acadêmica com maestria. Obrigado por acreditar no meu potencial e por me moldar enquanto profissional e ser humano. A senhora é um exemplo para todos os alunos, dona de um dos corações mais puros que conheço. Espero muito poder colher os bons frutos que nós cultivamos durante a graduação e poder ser seu motivo de orgulho futuramente. Meus mais sinceros agradecimentos, professora.

Aos meus demais mestres, que compartilharam além de conhecimentos científicos e técnicos, lições de ética, empatia e humanização, meu eterno reconhecimento e profundo respeito. Cada momento vivido em sala de aula, laboratório ou clínica se eternizará na memória e no coração como expressão de doação plena, capaz de transbordar de si para preencher o outro. Dentre tantos, desejo destacar os professores Abrahão Alves de Oliveira Filho, Débora Rochelly, Maria Angélica Sátyro Gomes Alves, Bárbara Vanessa de Brito Monteiro, Julierme Ferreira Rocha, Rosália Severo de Medeiros, Gymenna Maria Tenório Guênes, Luana Samara Balduino de Sena, Felipe de Souza Matos, Ana Karina Rolim, Tassia Cristina de Almeida Pinto Sarmiento, George João Ferreira do Nascimento, Luanna Abílio Diniz Melquíades de Medeiros, Elizandra Silva da Penha e Rosana Araújo Rosendo, como grandes exemplos de competência, generosidade e amor ao ofício que desempenham.

À minha banca avaliadora, constituída pelas professoras Gymenna Maria Tenório Guênes e Rosana Araújo Rosendo, minha estima e agradecimento por se fazerem presentes em tantos momentos significativos da graduação e, ainda mais, na defesa do trabalho de conclusão de curso. Carregarei no coração e na mente todo aprendizado, incentivo e colaboração compartilhados, além de tantos momentos descontraídos e de confraternização. Professora Gymenna, com sua simplicidade, coerência e sempre visão ampliada das situações me ensinou a persistir, aprimorar o que já estava significativamente bom e confiar no processo que estava sendo vivenciado; seus elogios e conselhos me instigaram a crescer. Professora Rosana foi a identificação mais genuína e sincera que eu pude experimentar na graduação. A senhora sempre manteve um desejo imenso de ajudar, aconselhar e a ver tudo com um olhar crítico e de questionamento para poder oferecer o melhor de si. Obrigado por tudo.

À Universidade Federal de Campina Grande, através de todo seu corpo docente, técnico e de funcionários terceirizados. A universidade é e sempre será uma fonte inesgotável de conhecimento, mesmo que tenha de resistir às investidas de desmonte e sucateamento ou de perseguição e tentativa de censura. Posso dar testemunho do quanto este ambiente me moldou para vida e para a futura profissão que em breve estarei abraçando. Sempre terei orgulho de carregar o nome desta casa comigo e espero ainda orgulhá-la em um futuro breve.

Aos funcionários da clínica escola e central de aulas II, dentre os quais desejo citar com muito respeito e carinho: Damião, Messias, Alex, Neuma, Aline, Amanda, Diana e Poliana, muito obrigado pela ajuda ao longo desta jornada. Com certeza todo o processo tornou-se mais confortável com o trabalho zeloso de cada um, seja organizando as salas de aula, laboratórios e clínicas, seja na listagem e marcação de pacientes. Vocês marcam positivamente a vida de cada pessoa que passa por esses ambientes. De modo especial, à Aline Kelly e Neuma Salete, que sempre me acolheram e me apoiaram quando mais precisei, em meio às correrias do dia a dia da clínica, em cada procedimento realizado, por todo o auxílio e disponibilidade de excelência, por todas as vezes que vocês me socorreram com materiais que me faltaram. Minha reverência e gratidão, meninas. Meus mais sinceros agradecimentos a Damião, eterno “Night”, pela amizade e companheirismo de sempre, por toda a gentileza e dedicação demonstradas durante todos estes anos.

“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.

(Josué 1:9)

RESUMO

Alterações na ecologia de bactérias que compõem o biofilme oral, assim como na proporção populacional dessa microbiota, promovem uma disbiose e favorecem o surgimento de estados patológicos simples ou até mesmo complexos. Os biofilmes disbióticos polimicrobianos podem ser tolerantes às respostas imunes do organismo hospedeiro e a tratamentos com antimicrobianos, permitindo a persistência de algumas bactérias, como a *Enterococcus faecalis* e a *Escherichia coli*, que têm potencial relação com infecções em feridas orais, periodontite, peri-implantite e infecções no sistema de canais radiculares. Assim sendo, a busca por substâncias alternativas no controle destes microrganismos resistentes tem despertado grandes interesses científicos, ampliando a utilização de biomateriais e fitoterápicos na saúde. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial antibacteriano de *scaffolds* à base de quitosana incorporados aos óleos essenciais (OEs) de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. contra cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*. O potencial antibacteriano foi avaliado através da leitura dos halos de inibição formados ao redor dos *scaffolds* à base de quitosana incorporados com OE de tomilho, OE de orégano e OE de tomilho e orégano contra cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC-29212) e *Escherichia coli* (CCCD-E003), utilizando a metodologia de difusão em ágar por poço. Para tal, como meio de cultura em placas de Petri foi utilizado o Ágar Mueller Hinton, e foram formados orifícios de 6 mm de diâmetro com auxílio de um molde originando os poços. As placas foram inoculadas na superfície pelo microrganismo com o uso de um swab, então foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 horas. *Scaffolds*, em forma de discos, foram depositados assepticamente nos poços dos meios inoculados, os quais foram incubados a 37 °C por 24 horas. Após a incubação, as placas foram observadas quanto à homogeneidade do crescimento bacteriano, sendo realizada a medição do diâmetro do halo inibitório, com auxílio de uma régua milimétrica, nos casos em que foi verificada inibição do crescimento das bactérias. Os testes foram realizados em duplicata e os resultados correspondem aos valores médios. Observou-se que a associação da quitosana com os OEs de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. possui atividade antibacteriana contra as cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*. Para os *scaffolds* incorporados com o OE de *Origanum vulgare* L. obteve-se a formação de halos de inibição de 14 e 16 mm para as cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*, respectivamente. Para os *scaffolds* incorporados com o OE de *Thymus vulgaris* L. obteve-se também a formação de halos de inibição de 14 e 16 mm para as cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*, respectivamente. Entretanto, para os *scaffolds* incorporados com a associação entre os OEs de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. obteve-se a formação de halos de inibição de 12 e 16 mm para as cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*, respectivamente. A associação da quitosana com os OEs de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. possui atividade antibacteriana, comportando-se como bactericida contra as cepas testadas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*.

Palavras-chave: Fitoterapia. Materiais biocompatíveis. Odontologia.

ABSTRACT

Changes in the ecology of bacteria that make up the oral biofilm, as well as in the population proportion of this microbiota, promote dysbiosis and favor the emergence of simple or even complex pathological states. Polymicrobial dysbiotic biofilms may be tolerant to the immune responses of the host organism and to antimicrobial treatments, allowing the persistence of some bacteria, such as *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*, which have a potential relationship with infections in oral wounds, periodontitis, peri-implantitis and infections in the root canal system. Therefore, the search for alternative substances to control these resistant microorganisms has aroused great scientific interest, expanding the use of biomaterials and herbal medicines in health. The present work aimed to evaluate the antibacterial potential of chitosan-based scaffolds incorporated with essential oils (EOs) of *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. against strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*. The antibacterial potential was evaluated by reading the strangulation halos formed around chitosan-based scaffolds incorporated with thyme EO, oregano EO and thyme and oregano EO against strains of *Enterococcus faecalis* (ATCC-29212) and *Escherichia coli* (CCCD-E003), using the well agar diffusion methodology. For this, Mueller Hinton Agar was used as a culture medium in Petri dishes, and holes of 6 mm in diameter were formed with the aid of a mold, originating the wells. The plates were inoculated on the surface by the microorganism using a swab, then they were incubated in a bacteriological oven at 37 °C for 24 hours. Scaffolds, in the form of discotheques, were aseptically deposited in the wells of inoculated media, which were incubated at 37 °C for 24 hours. After incubation, the plates were observed for the homogeneity of bacterial growth, and the measurement of the diameter of the inhibitory halo was carried out, with the aid of a millimeter ruler, in cases where inhibition of bacterial growth was verified. Tests were performed in duplicate and results correspond to mean values. It was observed that the association of chitosan with the EOs of *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. has antibacterial activity against strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*. For the scaffolds incorporated with the EO of *Origanum vulgare* L., the formation of inhibition halos of 14 and 16 mm was obtained for the strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*, respectively. For the scaffolds incorporated with the EO of *Thymus vulgaris* L., the formation of inhibition halos of 14 and 16 mm was also obtained for the strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*, respectively. However, for those scaffolds incorporated with the association between the EOs of *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L., the formation of inhibition halos of 12 and 16 mm was obtained for the strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*, respectively. The association of chitosan with the EOs of *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. has antibacterial activity, acting as a bactericide against the tested strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*.

Keywords: Phytotherapy. Biocompatible materials. Dentistry.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Avaliação da atividade antibacteriana de *scaffolds* à base de quitosana incorporados aos óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. contra *Enterococcus faecalis*.....52

Tabela 2. Avaliação da atividade antibacteriana de *scaffolds* à base de quitosana incorporados aos óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. contra *Escherichia coli*..55

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------------|---|
| AMH | Ágar Mueller Hinton |
| CBM | Concentração Bactericida Mínima |
| CIM | Concentração Inibitória Mínima |
| cm | Centímetro |
| CSTR | Centro de Saúde e Tecnologia Rural |
| DNA | Ácido Desoxirribonucleico |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| <i>E. faecalis</i> | <i>Enterococcus faecalis</i> |
| EPS | Exopolissacarídeos |
| <i>et al</i> | <i>et alii</i> |
| LPS | Lipopolissacarídeo |
| MDR | Multidrug-resistant |
| MG | Minas Gerais |
| mL | Mililitro |
| mm | Milímetros |
| MRSA | <i>Staphylococcus aureus</i> meticilina resistente |
| NaOCl | Hipoclorito de Sódio |
| OEO | Óleo Essencial de Orégano |
| OEs | Óleos Essenciais |
| OET | Óleo Essencial de Tomilho |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PCR | Reação em Cadeia da Polimerase |
| PEGF | Fumarato de Polietileno Glicol |
| pH | Potencial Hidrogeniônico |
| PNPIC | Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares |
| PVA | Álcool Polivinílico |
| QOEO | Quitosana incorporada ao Óleo Essencial de Orégano |
| QOET | Quitosana incorporada aos Óleos Essenciais de Orégano e Tomilho |
| QOET | Quitosana incorporada ao Óleo Essencial de Tomilho |
| RNA | Ácido Ribonucleico |

| | |
|----------|---|
| SLCF | Sistema de Liberação Controlada de Fármacos |
| SP | São Paulo |
| SUS | Sistema Único de Saúde |
| UACB | Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas |
| UFC | Unidade Formadora de Colônias |
| UFMG | Universidade Federal de Campina Grande |
| µg | Micrograma |
| µm | Micrometro |
| UNIFENAS | Universidade José do Rosário Vellano |
| UTIs | Unidades de Terapia Intensiva |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 17 |
| 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA..... | 20 |
| 2.1 INFECÇÕES BACTERIANAS NA ODONTOLOGIA..... | 20 |
| 2.2 <i>Escherichia coli</i> | 22 |
| 2.3 <i>Enterococcus faecalis</i> | 24 |
| 2.4 FITOTERAPIA NA ODONTOLOGIA..... | 26 |
| 2.5 PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DO <i>Thymus vulgaris</i> L. | 27 |
| 2.6 PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DO <i>Origanum vulgare</i> L..... | 29 |
| 2.7 PROPRIEDADES, APRESENTAÇÕES E APLICAÇÕES FARMACOLÓGICAS DA QUITOSANA | 31 |
| REFERÊNCIAS..... | 35 |
| ARTIGO | 46 |
| 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 63 |
| ANEXO 1..... | 64 |

1 INTRODUÇÃO

A cavidade oral apresenta uma ampla densidade microbiana, compreendendo desde bactérias, fungos, vírus até protozoários, que interagem entre si e com o hospedeiro desempenhando funções específicas no processo saúde-doença (Silva *et al.*, 2023). A união de bactérias em cooperação resulta na formação de uma complexa matriz com potencial aderente tanto a superfícies bióticas quanto abióticas e que pode ser chamada de biofilme, a qual é constituída por componentes orgânicos advindos destes microrganismos ou adquiridos do meio em que se encontra estabelecida (Lima *et al.*, 2021).

Não raro, tem-se conhecimento que as infecções orais são o principal motivo de consultas e intervenções odontológicas, sendo a formação do biofilme a primeira etapa para o estabelecimento dessas desordens (Rosato *et al.*, 2020). Alterações na ecologia de bactérias que compõem o biofilme, assim como na proporção populacional dessa microbiota, promovem uma disbiose e favorecem o surgimento de estados patológicos simples ou até mesmo complexos (Germano *et al.*, 2018).

Os biofilmes disbióticos polimicrobianos podem ser mais tolerantes a tratamentos com fármacos antimicrobianos e resistentes às respostas imunes do organismo hospedeiro, permitindo a sobrevivência e persistência de algumas bactérias, como a *Enterococcus faecalis* e a *Escherichia coli*, que têm potencial relação com infecções em feridas orais, periodontites, peri-implantites e infecções no sistema de canais radiculares (Tan *et al.*, 2022). Assim sendo, a busca por alternativas no controle de microrganismos resistentes tem despertado grandes interesses científicos, ampliando a utilização de biomateriais e fitoterápicos na saúde (Rice, 2021).

Os biomateriais são dispositivos compatíveis com os tecidos orgânicos, podendo ser de origem natural ou sintética, utilizados na saúde para fins diagnósticos e/ou terapêuticos (Ghasemi-Mobarakeh *et al.*, 2019). Dentre os biomateriais está a quitosana, sendo esta um biopolímero linear com ação anti-inflamatória e antimicrobiana, derivado da quitina e um possível candidato para aplicação no tratamento de doenças orais infecto-inflamatórias (Atashgahi *et al.*, 2021).

Dessa forma, ressalta-se que a quitosana evidencia boas perspectivas para aplicações odontológicas em infecções periodontais, tratamentos endodônticos, adesão de materiais restauradores ao substrato dentário, reparos teciduais, hemostasias, formação de células odontoblásticas em tratamentos do complexo dentino-pulpar e cicatrização de feridas (Lopes

et al., 2020). Além disso, esse biomaterial pode ser empregado para complementar e melhorar as propriedades de revestimentos de fios de sutura atualmente comerciais, reduzindo infecções pós-operatórias e acelerando o processo de cicatrização em cirurgias bucomaxilofaciais (Malacara; Urenda e Arrocena, 2022).

Em detrimento da biodegradação lenta e contínua da molécula de quitosana, drogas sintéticas e vegetais podem ser incorporadas a este biopolímero para atuarem no processo de reparação tecidual, hemostasia, analgesia, bem como em outras aplicações (Silva; Vieira e Gurgel, 2017). Dentre as drogas vegetais que podem ser associadas aos biopolímeros a fim de potencializar seus efeitos destacam-se os óleos essenciais (OEs), que são compostos naturais, complexos, líquidos e voláteis, obtidos como produtos do metabolismo secundário de plantas aromáticas, que apresentam componentes com inúmeras propriedades farmacológicas, entre elas a atividade antimicrobiana (Aljaafari *et al.*, 2021; Amalraj *et al.*, 2020).

Dentre os mecanismos de ação dos óleos essenciais, acredita-se que a maioria atue na membrana celular e na parede celular microbiana (El-Tarabily *et al.*, 2021). Alguns compostos, a exemplo dos terpenos, são capazes de interagir com células bacterianas e promover atividade bacteriostática ou bactericida em decorrência de grupos hidroxila, além de serem responsáveis por efeitos antifúngicos, antiparasitários, antioxidantes, anti-inflamatórios e antitumorais (Bora *et al.*, 2022; Čabarkapa *et al.*, 2019).

O *Thymus vulgaris* L., popularmente conhecido como tomilho, pertencente à família Lamiaceae, é uma erva medicinal aromática amplamente utilizada na indústria alimentícia como tempero e que apresenta compostos fenólicos como timol, carvacrol e p-cimeno (Rodrigues *et al.*, 2022). Semelhante ao tomilho, o *Origanum vulgare* L., popularmente chamado de orégano, também pertence à família Lamiaceae e apresenta inúmeras substâncias farmacológicas bioativas com potencial terapêutico (Kosakowska *et al.*, 2021).

Dessarte, os óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.) são substâncias naturais que suscitam um crescente interesse científico em razão de seus isômeros de fenol monoterpênicos: carvacrol (que possui cor amarelo claro, odor pungente e aromático) e o timol (substância branca com odor aromático e sabor acre), que exercem atividade antimicrobiana, lesam as membranas plasmáticas lipídicas, interferem na homeostase do pH e no equilíbrio de íons orgânicos, comprometem a divisão celular e promovem desidratação nas células bacterianas (Silva *et al.*, 2023). Assim sendo, visando aumentar a ação antimicrobiana, a associação de óleos essenciais à quitosana é considerada relevante, uma vez que estes possuem inúmeras propriedades farmacológicas, além de serem biocompatíveis e biodegradáveis (Brixner *et al.*, 2022).

Nesse contexto, tendo em consideração o aumento da resistência bacteriana, o desenvolvimento de novas aplicações farmacológicas da quitosana e de produtos naturais, bem como a escassez de estudos referentes a esta linha de pesquisa, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial antibacteriano de *scaffolds* à base de quitosana incorporados aos óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. contra cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 INFECÇÕES BACTERIANAS NA ODONTOLOGIA

Bactérias são seres procariotos, desprovidos de membrana nuclear (carioteca) e que não apresentam todas as estruturas internas de células eucariontes, podendo dispor de morfologias específicas como cocos, bacilos e espiroquetas (Freires e Rodrigues Júnior, 2022; Nogueira e Miguel, 2009). O tamanho destes microrganismos pode variar entre 0,2 e 5 µm, sendo capazes de sobreviver sem a presença de um hospedeiro, além de possuírem uma parede celular localizada externamente à membrana citoplasmática, a qual é constituída por peptidoglicanos (Levinson, 2016).

No que concerne à patogenicidade, as bactérias podem ser classificadas como comensais, as quais colonizam harmonicamente um hospedeiro, e patogênicas, que são responsáveis pelo desenvolvimento de infecções bacterianas (Levinson, 2016; Teixeira, 2020). A extensão na qual o organismo é comprometido classifica estas infecções em locais, as quais não apresentam indícios de bacteremia ou septicemia, ou generalizadas, que denotam envolvimento sistêmico (Silva e Nogueira, 2022; Tortora; Funke e Case, 2016).

Tem-se conhecimento que o biofilme é constituído por um agregado de microrganismos com potencial de aderência uns aos outros e/ou a uma superfície, inseridos em uma matriz autoproduzida de exopolissacarídeos (EPS), e que estão em harmonia com o sistema imune do organismo hospedeiro (Bowen *et al.*, 2018). Entretanto, o descontrole na flora bacteriana do indivíduo ou a inserção de um microrganismo externo a este biofilme promove uma ruptura no equilíbrio entre o sistema de defesa humano e o mecanismo bacteriano, tem-se então o surgimento de processos infecciosos (Lima *et al.*, 2021).

No âmbito odontológico, desequilíbrios na microbiota do biofilme oral podem desencadear desde processos bem localizados e de baixa intensidade, como a cárie dentária e a doença periodontal, até processos complexos e disseminados através dos espaços fasciais da cabeça e pescoço, como infecções odontogênicas severas (Sampaio; Oliveira e Oliveira Filho, 2022). De acordo com Aguiar (2020), microrganismos que compõem o biofilme oral são um dos principais fatores associados a infecções bucais, sendo que essa patogenicidade pode apresentar-se em variados graus de severidade e extensão, a depender do estado imunológico em que o organismo do hospedeiro se encontra.

Não obstante, algumas feridas que envolvem o complexo bucomaxilofacial, intra ou extraoralmente, apresentam-se como lesões que não possuem uma barreira protetora, a

exemplo de úlceras ou processos de cicatrização por segunda intenção, e que estão predispostas à contaminação imediata (Santos, 2021). Sendo assim, estes tipos de lesões são suscetíveis à colonização pela microflora hospedeira ou por microrganismos externos, compondo ambientes ideais para proliferação de patógenos que, conseqüentemente, podem desenvolver processos infecciosos (Silva *et al.*, 2023).

É imprescindível destacar que a cavidade oral possui áreas com nichos microbianos variados, portanto alguns fatores podem afetar a saúde geral do indivíduo, posto que existem doenças sistêmicas diretamente relacionadas a infecções bacterianas de origem bucal (Peng *et al.*, 2022). Pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) comumente apresentam fatores que dificultam a higiene oral, como a restrição da limpeza natural obtida pela mastigação, diminuição dos movimentos da língua, redução do fluxo salivar por uso de medicamentos, uso do tubo endotraqueal e impossibilidade de realizar a sua própria higiene oral. Todos esses fatores contribuem para a formação de biofilme e para o desenvolvimento de afecções bucais e infecções respiratórias, como a pneumonia nosocomial (Neves; Lima e Maranhão, 2021). Os patógenos frequentemente encontrados nesse tipo de pneumonia são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* (Santos *et al.*, 2017).

Na periodontia, estudos afirmam que altos níveis de bactérias presentes em doenças periodontais, como *Actinomyces actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Treponema denticola* estão associados a doenças cardiovasculares (Cervino *et al.*, 2018; Fiorillo *et al.*, 2019; Lombardi *et al.*, 2018). Na odontologia hospitalar, avaliando-se amostras da língua, aspirador endotraqueal e do tubo do aspirador artificial, Cruz, Morais e Trevisani (2014) comprovaram que 70% dos microrganismos encontrados no aspirador traqueal constituíam o biofilme, 63% encontrados na amostra da língua e 73% no tudo do aspirador.

Ademais, algumas superfícies abióticas também podem ser meios suscetíveis à colonização por diversos microrganismos patogênicos, como comprovado através do estudo de Trujillo (2018) que avaliou a contaminação microbiana de escovas dentais. Como resultado, foram identificadas as seguintes bactérias: *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus coagulase negativo*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Enterococcus faecalis* e *Enterobacter aureoginosa*.

Na endodontia, Lins *et al.* (2013) destacaram o *Enterococcus faecalis* como um patógeno oportunista, Gram-positivo e anaeróbio facultativo, evidenciado em infecções endodônticas primárias e secundárias/persistentes. De modo semelhante, a *Escherichia coli*

faz parte do conjunto de microrganismos que estão associados às infecções secundárias envolvendo patologias endodônticas, bem como atua na formação de biofilme no interior dos canais radiculares e está relacionada à grande parte dos insucessos nos tratamentos (Medeiros; Vasconcelos e Oliveira, 2020).

2.2 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* (*E. coli*) é um bacilo Gram-negativo, anaeróbio facultativo, predominante em infecções que envolvem o sistema de canais radiculares e em casos de insucesso no tratamento endodôntico, além de estar frequentemente envolvida em infecções gastrointestinais, endocardite e outras infecções no corpo humano (Puvaca e Frutos, 2021). Sua patogênese está diretamente relacionada à liberação de endotoxinas e citotoxinas, além da indução de citocinas pró-inflamatórias de células epiteliais do hospedeiro (Akuzawa e Karabayashi, 2018). O mecanismo de aderência da *Escherichia coli* é estabelecido por meio de fímbrias, que envolve a interação com receptores de superfície das células (Rossi *et al.*, 2018).

O lipopolissacarídeo (LPS) produzido pela *Escherichia coli* possui consideráveis evidências da sua presença em dentes com doença periodontal, tendo forte influência na patogênese da doença (Leite, 2016). De acordo com os achados clínicos de Santos *et al.* (2002), microrganismos da família das Enterobactérias, como a *E. coli*, apesar de não serem frequentemente relatados na microbiota subgingival, podem estar presentes na cavidade bucal, inclusive em bolsas periodontais de pacientes que respondem de maneira não esperada ou que não respondem ao tratamento periodontal, apresentando-se em um percentual aproximado de 15% destas bolsas. Além disso, este microrganismo tem demonstrado relação com pacientes debilitados que necessitam de tratamentos duradouros com antibióticos ou citotóxicos (Conti *et al.*, 2009).

É imprescindível destacar que a superfície de materiais restauradores como resina acrílica, resina composta, cimento de ionômero de vidro autopolimerizável e cimento de ionômero de vidro fotopolimerizável podem contribuir para a formação do biofilme de *Escherichia coli* e para a adesão de elementos sanguíneos (Leite, 2016). Assim sendo, a inflamação nos tecidos periodontais pode resultar da interação entre estes materiais restauradores e o LPS produzido pelas bactérias Gram-negativas, sendo que o LPS de *Escherichia coli* evidencia ter afinidade por esses materiais, podendo esta afinidade ser

afetada pelas características superficiais de cada material e pelo seu pH, como demonstrado no estudo de Leite (2016).

Na odontologia hospitalar, Muthu e Muthanandam (2018) relataram que microrganismos anaeróbios Gram-negativos, como a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, atuam como agentes etiológicos, tanto em doenças pulmonares crônicas como em doenças periodontais. A proporção dessas bactérias na cavidade oral pode chegar a 70% no biofilme dental, 63% na língua e 73% no tubo do respirador artificial (Pace *et al.*, 2008).

Em detrimento das habilidades de desenvolvimento de resistências genéticas antibacterianas da *Escherichia coli*, novos estudos envolvendo a aplicação de biomateriais associados a fitoterápicos tem suscitado interesse científico (Brixner *et al.*, 2022; Puvaca e Frutos, 2021). Lamarra *et al.* (2020) avaliaram a atividade antimicrobiana de discos de *scaffolds* (1,5 cm de diâmetro) à base de PVA e quitosana através do método de difusão em ágar. Estes pesquisadores concluíram que os *scaffolds* foram um veículo para a liberação controlada de óleos essenciais, identificando maior atividade antimicrobiana frente a bactérias e apresentando potencial para ser aplicado na área biomédica.

Em contrapartida à contaminação de superfícies abióticas ou à presença da *Escherichia coli* em bolsas periodontais, é na composição do biofilme patogênico nos casos de infecções endodônticas secundárias do sistema de canais radiculares que esta bactéria é mais relatada (Lima *et al.*, 2021). Siqueira Júnior *et al.* (2001) encontraram *E. coli* em 3,7% dos casos de abscesso perirradicular agudo por meio de PCR. Peculene *et al.* (2001) identificaram *E. coli* em cerca de 10% dos canais radiculares de dentes com periodontite apical crônica por meio de cultura microbiana. No estudo de Lysakowska *et al.* (2016), as infecções secundárias envolvendo os canais radiculares apresentaram microbiotas diversas, sendo a *Escherichia coli* e o *Enterococcus faecalis* os microrganismos mais prevalentes.

2.3 *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*) é uma bactéria Gram-positiva, anaeróbia facultativa, colonizadora do trato gastrointestinal de humanos e que apresenta forte adaptabilidade ambiental (Ali *et al.*, 2017). A capacidade de formar biofilmes robustos e maduros torna esta bactéria resistente a situações de escassez nutricional e ambientes com valores extremos de pH alcalino (Tan *et al.*, 2022). O *E. faecalis* consiste em um microrganismo invasor oportunista em pacientes imunossuprimidos, neonatos e idosos, e contribui para o surgimento de várias infecções oportunistas como infecções do trato urinário, bacteremia, infecções de próteses articulares, infecções abdominal-pélvicas e no trato biliar, endocardite, doença periodontal e infecções endodônticas, sendo um dos principais patógenos associados a infecções hospitalares (Marino *et al.*, 2021; Romay *et al.*, 2022).

Comumente a colonização de lesões cutâneas infectadas possui natureza polimicrobiana, na qual cepas de bactérias de importância médica e odontológica, como *E. faecalis*, podem ser isoladas (Terra *et al.*, 2017). Um estudo de Chuvasco *et al.* (1999) analisou a composição microbiológica de lesões cutâneas ocasionadas por pressão em pacientes do Hospital Público Regional de Betim-MG e da Clínica de Fisioterapia da UNIFENAS. Foram isoladas as seguintes bactérias: *Staphylococcus aureus* (9 pacientes), *Pseudomonas aeruginosa* (9 pacientes), *E. faecalis* (8 pacientes), *E. coli* (4 pacientes), *Citrobacter sp* (1 paciente) e *Klebsiella sp* (1 paciente). Quanto ao antibiograma, os pesquisadores relataram resistência das amostras aos seguintes fármacos: neomicina (13), cefotaxima (24), gentamicina (13), polimixina (12), ofloxacina (5), cloranfenicol (10), tetraciclina (13) e rifamicina (16). Corroborando com estes achados, Terra e colaboradores (2017) afirmam que as lesões por pressão infectadas compõem um reservatório de bactérias com considerável virulência e resistência, no qual *E. faecalis* e *Staphylococcus aureus* são as bactérias Gram-positivas mais frequentemente isoladas deste tipo de feridas, transformando-as em focos de bacteremia.

Na Odontologia, *E. faecalis* é o principal patógeno da periodontite periapical persistente e que apresenta inúmeros mecanismos de sobrevivência, sendo frequentemente encontrado em canais obturados (Wu *et al.*, 2020). Weckwerth *et al.* (2013) avaliaram 150 pacientes tratados no serviço de endodontia da Universidade do Sagrado Coração, Bauru-SP, e identificaram a presença do *E. faecalis* na cavidade bucal de 13,3% dos participantes, sendo observado o crescimento de cepas desta bactéria em pH alcalino (9,5 a 11,5). Ademais, Sedgley, Lennan e Appelbe (2005) evidenciaram a sobrevivência de *E. faecalis* por até 12

meses em dentes extraídos sem nutrientes adicionais, que foram instrumentados e inoculados com cepas desse microrganismo e avaliados depois de 6 meses.

No entanto, cepas de *E. faecalis* podem ser encontradas em outros locais da cavidade oral além dos canais radiculares, mesmo que em pequenas concentrações, como demonstrado pelo estudo de Martínez *et al.* (2015) que coletaram amostras da mucosa oral através de swabs de 200 indivíduos, indicando a presença de *E. faecalis* em 10 (5%) dos pacientes. Constatou-se ainda que 60% das amostras que denotaram em resultados positivos para *E. faecalis* eram provenientes de pacientes portadores de próteses removíveis. Este microrganismo também pode estar associado a casos de peri-implantite, posto que ele tem a capacidade de colonizar o elemento dentário e o osso circundante, podendo permanecer no tecido ósseo após a extração do dente e afetar diretamente a instalação do implante, o que impede sua correta adaptação (Adón e Echavarría, 2021).

Os achados relatados acima sugerem que *E. faecalis* é um microrganismo ocasional e transitório na cavidade oral, de alta virulência, com capacidade de proliferação em condições extremas de pH e falta de nutrientes (Martínez *et al.*, 2015). Seu mecanismo de entrada na cavidade oral não está completamente esclarecido, mas pode ser encontrado tanto em pacientes internados quanto em ambulatoriais, especialmente em casos nos quais os pacientes apresentam quadros de periodontite apical, falhas pós-tratamento endodôntico ou outro foco de infecção, como feridas orais e lesões cariosas (Fisher e Phillips, 2009).

Com o uso generalizado e inadequado de antibióticos, a *E. faecalis* emergiu como uma bactéria patogênica com resistência intrínseca a agentes antimicrobianos, como beta-lactâmicos, vancomicinas e aminoglicosídeos, bem como resistência adquirida a elementos móveis contra glicopeptídeos, quinolonas, tetraciclinas e estreptogramina. Essas capacidades adaptativas estão intimamente relacionadas com a formação do biofilme desse microrganismo (Jahansepa *et al.*, 2018). A resistência dessa bactéria a antibióticos comercializados é motivo de preocupação e contribui para o desenvolvimento de infecções difíceis de tratar (Van Harten *et al.*, 2017). Dessa forma, destaca-se a necessidade de aplicação de terapias alternativas que manifestem considerável eficácia contra estes microrganismos, como a fitoterapia e o emprego de biomateriais com propriedades farmacológicas (Rice, 2021).

2.4 FITOTERAPIA NA ODONTOLOGIA

A fitoterapia refere-se à ciência responsável por estudar o tratamento ou a prevenção de doenças através da utilização de ervas ou medicamentos cujos constituintes ativos são provenientes de plantas ou derivados vegetais (Oliveira; Mezzomo e Moraes, 2018). Embora existam diversas possibilidades quanto ao emprego de plantas medicinais, elas são consideradas como uma prática terapêutica repassada durante a evolução do tempo através de conhecimentos populares, que buscaram benefícios em prol da recuperação da saúde e melhoria da qualidade de vida (Siqueira *et al.*, 2022). Entretanto, em decorrência da falta de embasamento científico, no início do século XX, o uso de plantas medicinais foi substituído pelos medicamentos alopáticos (Aleluia *et al.*, 2017).

Na década de 70, a Organização Mundial da Saúde (OMS) impulsionou estudos direcionados à utilização de plantas medicinais, porém somente a partir dos anos 80 e 90 os medicamentos fitoterápicos tiveram um aumento expressivo no mercado mundial (Aleluia *et al.*, 2017). Consoante às recomendações da OMS, foi aprovada em 2006 no Brasil, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), beneficiando diretrizes e responsabilidades institucionais para implantação de ações e serviços de medicina tradicional chinesa/acupuntura, homeopatia, plantas medicinais e fitoterapia.

Numerosos são os tratamentos existentes para afecções orais, contudo estes podem apresentar efeitos colaterais desagradáveis, seja pela alteração da microbiota oral ou pelos sintomas gastrointestinais (Sarri; Augusco e Scapin, 2022). Assim sendo, a procura por novas alternativas aos tratamentos orais convencionais se torna necessária, tendo em vista o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos comercializados ou pelo fato destes medicamentos apresentarem efeitos indesejáveis a determinado grupo de pessoas, além de serem mais onerosos (Miltinovici *et al.*, 2021).

Na Odontologia, a valorização, aceitação e a aplicação da fitoterapia têm sido perceptíveis, uma vez que esta ciência tem demonstrado resultados promissores, apresenta baixo custo, fácil acessibilidade, biocompatibilidade e menor probabilidade de causar efeitos colaterais (Enioutina *et al.*, 2017; Jahangir *et al.*, 2020; Sharma *et al.*, 2021). Amparo e colaboradores (2020) ressaltam que os fitoterápicos podem ser utilizados na Odontologia em suas diferentes formas farmacêuticas, entre elas destacam-se os óleos essenciais, extratos glicólicos, pastas, pomadas, xaropes, cremes, géis, cápsulas e comprimidos.

Os óleos essenciais obtidos de matéria vegetal como flores, brotos, sementes, madeira, frutos, folhas, galhos, cascas e raízes possuem potencial antibacteriano, antifúngico, antiviral, antioxidante e inseticida (Mota *et al.*, 2018). Segundo Bao Vu *et al.* (2021), pacientes submetidos a exodontias de terceiros molares inferiores parcialmente impactados que receberam terapia combinada com medicamentos fitoterápicos apresentaram aumento da cicatrização óssea após 3, 6 e 12 meses, bem como nenhum paciente apresentou episódio de osteíte alveolar ou infecção secundária.

Sreenivasan, Haraszthy e Rayela (2020) evidenciaram reduções significativas em grupos bacterianos funcionais de nichos orais distintos através do emprego de creme dental à base de plantas medicinais. Khoshbakht *et al.* (2019) demonstram que colutórios fitoterápicos são bons candidatos para o controle da gengivite, apresentando efeitos colaterais menores quando comparados com colutórios à base de clorexidina. Tendo por finalidade aumentar as funções imunomoduladoras e reduzir a ocorrência dos episódios de úlcera aftosa recorrente, Khozeimeh *et al.* (2018) avaliaram por seis meses a ação de um medicamento à base de plantas medicinais, obtendo eficácia em várias lesões, além de observarem redução da intensidade dolorosa e da taxa de ocorrência em comparação ao grupo controle.

No entanto, os medicamentos fitoterápicos também possuem contraindicações e podem apresentar efeitos colaterais como reações de hipersensibilidade, toxicidade, estimulação da motilidade uterina e interações medicamentosas com outros fármacos, sendo de fundamental relevância a necessidade de profissionais capacitados para a prescrição dessa abordagem terapêutica aos seus pacientes (Amparo *et al.*, 2020).

2.5 PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DO *Thymus vulgaris* L.

Thymus vulgaris L., popularmente conhecido por tomilho, é uma planta com folhas pequenas, fortemente aromáticas, verde-acinzentadas, perene, que mede de 10 a 30 cm de altura com base lenhosa e que apresenta cachos de flores de cor violeta claro, pertencente à família Lamiaceae, gênero *Thymus* L. e espécie *Thymus vulgaris* L. (Mandal e Debmandal, 2016). Entretanto, as características morfológicas dessa planta podem variar de acordo com as condições ambientais, sendo que ela cresce bem em áreas áridas, temperadas e sem sombra, como também pode ser propagada através de sementes, estacas ou dividindo seções enraizadas (Kuete, 2017; Mahboubi *et al.*, 2017).

Ademais, o *Thymus vulgaris* L. é caracterizado por polimorfismo químico de acordo com o principal componente volátil, existindo seis quimiotipos conhecidos no óleo essencial dessa planta: geraniol, linalol, α -terpineol, tujanol-4, timol e carvacrol (György; Incze e Pluhár, 2020). De acordo com Galovičová *et al.* (2021), os principais componentes do óleo essencial de tomilho são o timol (48,1%), p-cimeno (11,7%), 1,8-cineol (6,7), γ -terpineno (6,1%) e carvacrol (5,5%), sendo estes os responsáveis pelas diversas propriedades farmacológicas desempenhadas pela planta.

Diversos estudos *in vitro* e *in vivo*, que utilizaram linhagens celulares e modelos animais com condições patológicas induzidas, comprovaram a eficiência do *Thymus vulgaris* L. como agente terapêutico, destacando a importância dessa planta como antídoto natural para envenenamentos, antisséptico e cicatrizante de feridas, remédio para dermatites e problemas respiratórios, antioxidante, antibacteriano, anti-inflamatório, antifúngico, anticancerígeno, antiviral, anti-hiperglicêmico, além de outras propriedades farmacológicas (Abotaleb *et al.*, 2020; Caverzan *et al.*, 2020; Patil *et al.*, 2021).

Segundo estudos de Gnat e colaboradores (2017), bactérias como a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* e *Listeria monocytogenes* foram sensíveis ao extrato etanólico de *Thymus vulgaris* L., nos quais a Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi observada como > 6,25; 0,2; 0,78; 3,12; > 6,25 e 0,39 mm, respectivamente, na concentração de 100 μ l ($p < 0,05$). Uma maior atividade inibitória foi observada pelo uso do óleo essencial de tomilho contra cepas de bactérias em comparação com os extratos aquosos, etanólicos e até alguns antibióticos (Fadil *et al.*, 2018). Além disso, o óleo essencial dessa planta foi capaz de inibir a formação de biofilmes considerados altamente patogênicos, exibindo uma atividade antibacteriana significativa contra cepas MDR e MRSA (Amorese *et al.*, 2018; Arshad *et al.*, 2017; Čabarkapa *et al.*, 2019).

Tendo por objetivo determinar o efeito do *Thymus vulgaris* L. na cicatrização de feridas cutâneas induzidas, Lino (2021) evidenciou que pomadas à base de tomilho nas concentrações de 10% e 20% são eficazes na redução do tempo de cicatrização, demonstrando efeitos promissores, sobretudo nas primeiras 24 horas. Os efeitos benéficos de tal aplicação podem ser identificados devido à presença do timol e carvacrol, que são amplamente utilizados em antissépticos para as mãos e colutórios bucais, além de estudos comprovarem o uso dessa planta em tratamentos dermatológicos (Jaric; Mitrovic e Pavlovic, 2015; Vouillamoz e Christ, 2020).

Para a Odontologia, o óleo essencial do tomilho apresenta inúmeras propriedades terapêuticas como evidenciado por Fani *et al.* (2017), uma vez que essa substância foi responsável pelo efeito antibacteriano sobre cepas frequentes em doenças orais. Rash *et al.* (2020) estabeleceram a atividade antibacteriana do óleo essencial de *Thymus vulgaris* L. contra cepas de *Porphyromonas gingivalis* com Concentração Bactericida Mínima (CBM) em 48 horas a 37°C de 12,5 μ L/mL, comprovando a ação dessa planta como um agente antimicrobiano natural no tratamento da periodontite. Santos *et al.* (2010) avaliaram *in vitro* o efeito do óleo essencial de *Thymus vulgaris* L. puro e em associação a um colutório bucal frente a cepas de *Streptococcus mutans*. Estes pesquisadores confirmaram, através das análises da formação de placa bacteriana, a eficácia das novas formulações de enxaguantes contendo óleo essencial de tomilho como agentes antibacterianos com possível aplicação na odontologia preventiva.

2.6 PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DO *Origanum vulgare* L.

Origanum vulgare L., comumente conhecido como orégano, pertence à família Lamiaceae, sendo tradicionalmente usado para aromatizar alimentos, assim como no tratamento de diversas patologias (Soltani *et al.*, 2021). Habitualmente, as plantas de orégano crescem de 20 a 90 cm de altura e são caracterizadas por folhas em forma de ovo com 10 a 40 mm de comprimento e 5 a 25 mm de largura, a inflorescência é multiflorada, com flores agrupadas em espigas curtas e densas laterais ou terminais (Arabaci *et al.*, 2021; Soltani *et al.*, 2021). Várias espécies de *Origanum vulgare* L. estão entre as plantas mais estudadas em decorrência de seus potenciais efeitos antimicrobianos, que podem variar de acordo com a espécie de microrganismo e com o tipo de extração da planta – óleos essenciais ou extratos diversos (Pezzani; Vitalini e Iriti, 2017).

Do ponto de vista químico, os compostos representativos responsáveis pelas principais propriedades farmacológicas identificadas em diferentes óleos essenciais são os monoterpenos fenólicos isoméricos: carvacrol ou 2-metil-5-(1-metiletil)-fenol e timol ou 2-isopropil-5-metilfenol (Oninga *et al.*, 2018). Os óleos essenciais de espécies de *Origanum vulgare* L. de diferentes países foram avaliados e descritos, verificando-se padrões dependentes das condições pedoclimáticas, localização geográfica e condições de crescimento (Lombrea *et al.*, 2020; Oninga *et al.*, 2018). Todavia, a presença do carvacrol e do timol como principais

fenóis responsáveis pela capacidade antimicrobiana do óleo essencial de orégano é unanimemente aceita (Lombrea *et al.*, 2020; Yakup *et al.*, 2020).

Dessarte, o óleo essencial de orégano não só tem um histórico impressionante na medicina tradicional, como também é uma fonte natural para a obtenção de medicamentos fitoterápicos (Chouhan; Sharma e Guleria, 2017). Além disso, os fitocompostos ativos que compõem os óleos essenciais dessa planta apresentam muitos benefícios terapêuticos como efeitos antimicrobianos, antioxidantes, anti-inflamatórios, antiproliferativos, vasoprotetores, antidiabéticos, antienvelhecimento e cicatrizantes (Brondani *et al.*, 2018; Chouhan; Sharma e Guleria, 2017; Costa *et al.*, 2018).

Grande parte das infecções bacterianas em pele e nos tecidos moles ocorre devido à contaminação por *Staphylococcus aureus*, bactéria Gram-positiva cujas toxinas levam à produção de citocinas e mediadores pró-inflamatórios, que representam uma ameaça crítica para a saúde pública devido à sua resistência aos antibióticos e à agressividade das infecções cutâneas (Liu *et al.*, 2018). Dessa maneira, a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum vulgare* L. foi consideravelmente explorada no decorrer do tempo. Fratini *et al.* (2017) avaliaram a atividade antibacteriana do óleo essencial de orégano por ensaio de microdiluição contra 14 cepas de *Staphylococcus aureus* e obtiveram valores notáveis de CIM (CIM \leq 0,240 mg/mL para 9 cepas e CIM \leq 0,480 mg/mL para 5 cepas).

O óleo essencial de orégano (CIM: 0,25-0,5 mg/mL) atua como um potente agente antibiofilme de *Streptococcus pyogenes* (na concentração de 0,5 mg/mL) com atividades bactericida e bacteriostática (Wijesundara e Rupasinghe, 2018). Khan e colaboradores (2017) mostraram que o carvacrol e o timol exibiram potente atividade bactericida (IC₅₀: 65 e 54 μ g/mL, respectivamente) e antibiofilme (em concentração de 100 μ g/mL) contra *Streptococcus mutans*, além de promover inibição do crescimento de *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus* e *Staphylococcus aureus*. Ragi *et al.* (2011) realizaram ensaios clínicos a fim de avaliar a propriedade cicatrizante e antimicrobiana de pomadas associadas ao extrato de *Origanum vulgare* L. em 40 pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos, e comprovaram que este produto reduziu infecções bacterianas nas feridas cirúrgicas em 22%.

No contexto odontológico, Tiwari *et al.* (2018) concluíram que a associação entre o óleo essencial de *Origanum vulgare* L. e hidróxido de cálcio contra cepas de *E. faecalis* em ensaios *in vitro* apresentou eficácia como medicação intracanal quando comparado à pasta antibiótica tripla. Ok, Adanir e Hakki (2015) afirmaram que o extrato de orégano nas concentrações de 0,5 a 4,5% foi menos citotóxico que o hipoclorito de sódio (NaOCl) a

5,25%, concordante que seu uso pode ser uma alternativa à irrigação de canais radiculares com NaOCl. Além disso, Akkaouni e colaboradores (2020) alegam através de seu estudo que o óleo essencial de orégano pode encontrar aplicação como agente antibacteriano na periodontite associada a *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Convém salientar que o carvacrol e o timol presentes no óleo de *Origanum vulgare* L. são responsáveis por exibir atividade bactericida e antibiofilme contra cepas de *Streptococcus mutans*, tornando este produto uma alternativa verde para o controle da cárie dentária (Khan *et al.*, 2017). Desse modo, a utilização de óleos essenciais constituídos por carvacrol e timol é de fundamental importância odontológica, pois participa como coadjuvante no controle do biofilme supragengival e da gengivite quando associados ao controle mecânico convencional (Tada *et al.*, 2020).

2.7 PROPRIEDADES, APRESENTAÇÕES E APLICAÇÕES FARMACOLÓGICAS DA QUITOSANA

A caracterização, desenvolvimento e aplicabilidade biomédica de biomateriais na regeneração de tecidos danificados por doenças e/ou lesões é uma temática crescente entre as pesquisas científicas (Madni *et al.*, 2021; Sultankulov *et al.*, 2019). Dentre os biomateriais está a quitosana, sendo esta um polissacarídeo linear, catiônico, constituído de glicosamina e N-acetilglucosamina, derivada da quitina – segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, extraído através dos exoesqueletos de crustáceos, insetos, moluscos e da parede celular de fungos e leveduras (Cavalcanti, 2023). Esse biopolímero hidrofílico é caracterizado por propriedades de biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa imunogenicidade, antimicrobiana, antitumoral, antioxidante, anti-inflamatória, antidiabética, imunoestimulante e não toxicidade *in vivo*, podendo ser encontrado na forma de géis, membranas, *scaffolds*, esferas, e pó com diferentes granulações (Madni *et al.*, 2021; Rollim *et al.*, 2019; Shariatinia, 2019; Sultankulov *et al.*, 2019).

Outrossim, a quitosana é um biopolímero de baixo custo, renovável, com grande importância econômica e ambiental, que tem sido amplamente usado na engenharia de tecidos e em aplicações de medicina regenerativa (Déprés-Tremblay *et al.*, 2018). Este biomaterial é obtido por meio da desacetilação de quitina que pode ser conduzida através de tratamentos químicos e enzimáticos, sendo o método químico o de melhor custo-benefício e, consequentemente, o mais empregado (Cheung *et al.*, 2015). Alguns dos principais fatores

que influenciam na atividade antimicrobiana da quitosana são a massa molar, o grau de desacetilação e o pH do meio (Matica *et al.*, 2019; Riaz Rajoka *et al.*, 2020).

A aplicabilidade da quitosana na Odontologia e na Medicina está baseada na sua íntima relação com o sistema biológico do ser humano, especialmente com a matriz extracelular, posto que esse material é responsável por estimular células nos processos de reparação tecidual (Rollim *et al.*, 2019; Rosendo *et al.*, 2020). Além disso, apresenta a característica de ser um material versátil em relação à sua forma de apresentação e conjugação com outros materiais, incluindo produtos naturais, o que permite seu uso em tecidos distintos como: mucosa oral, tecido neural, tecido ósseo, enxertos vasculares, cartilagem e pele (Madni *et al.*, 2021; Medeiros *et al.*, 2016). Liu e colaboradores (2019) avaliaram, através de estudos *in vitro*, membranas à base de biomateriais associadas a óleos essenciais na promoção da regeneração em feridas de espessura total e evidenciaram características físico-químicas adequadas, bem como atividades antimicrobianas contra os microrganismos testados.

Considerando suas propriedades biológicas, a quitosana revela um amplo espectro antimicrobiano mediante bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, além de fungos (Confederat *et al.*, 2021). Estudos científicos disponíveis na literatura comprovam a atividade deste biopolímero contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*, *Candida albicans* e *Candida dubliniensis* (Amalraj *et al.*, 2020; Barzegar *et al.*, 2021; Matica *et al.*, 2019; Rodríguez-Vázquez *et al.*, 2015; Santos *et al.*, 2019).

Quanto ao mecanismo de ação da quitosana, compreende-se que há uma dependência das interações eletrostáticas desse produto com os componentes da parede celular bacteriana (Confederat *et al.*, 2021). Enquanto nas bactérias Gram-positivas essa interação se deve aos ácidos teicóicos ligados à camada do peptidoglicano, nas Gram-negativas é devido à presença de lipopolissacarídeos (LPSs) na camada externa bacteriana, podendo impedir as trocas intra/extracelulares, destruir a parede celular ou extravasar o conteúdo citoplasmático (Matica *et al.*, 2019).

A quitina é uma estrutura altamente organizada, o que lhe proporciona insolubilidade na maioria dos solventes orgânicos, possibilitando a criação de estruturas tridimensionais com poros interconectados, também chamadas de *scaffolds*, para que outros materiais sejam usados em meios que necessitam de estabilidade do material para sua ação (Moraes *et al.*, 2017; Paretsis *et al.*, 2017). Os *scaffolds* podem ser definidos como arcabouços que irão preencher e dar suporte aos tecidos, além da possibilidade de serem combinados a fatores de crescimento,

células e produtos naturais ou sintéticos (Holzapfel; Rudert e Hutmacher, 2017). Dessa forma, estes dispositivos são capazes de guiar a regeneração de tecidos e atuar como agentes antimicrobianos (Moussa e Aparicio, 2019).

O emprego de *scaffolds* bioativos à base de quitosana exerce papel fundamental no processo de regeneração tecidual, pois sua porosidade irá influenciar diretamente na viabilidade, migração, adesão, proliferação e diferenciação celular (Pereira *et al.*, 2020). Barzegar e colaboradores (2021) analisaram estruturas nanofibras à base de quitosana/PVA carregadas com óleos essenciais como curativos antimicrobianos e observaram, através da CBM, um aumento da atividade antimicrobiana dos *scaffolds* contra todos os microrganismos testados, concluindo que estes biomateriais podem ser potencialmente utilizados como curativos para feridas. Além de promoverem efeitos sinérgicos quando associados aos biomateriais, os óleos essenciais podem cooperar com biopolímeros durante a fabricação de *scaffolds*, podendo substituir componentes sintéticos fundamentais no processo de sintetização de biomateriais, como o agente plastificante álcool polivinílico (PVA) (Liu *et al.*, 2019; Ren *et al.*, 2022).

Rosendo (2016) desenvolveu e caracterizou *scaffolds* de quitosana com diferentes concentrações do extrato alcóolico de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C.E. Jarvis, tendo por finalidade avaliar a possível utilização desses dispositivos em pacientes portadores de diabetes melito tipo 2. Este mesmo estudo evidenciou que os *scaffolds* compostos de quitosana incorporados com a droga vegetal testada na faixa entre 10% e 15% são os melhores a serem utilizados em testes *in vivo*.

Consoante ao estudo de Souza (2022), que sintetizou e caracterizou *scaffolds* porosos e membranas poliméricas à base de quitosana e xantana associadas à hidroxiapatita e óxido de grafeno, foi possível comprovar que os biomateriais são promissores para a regeneração de tecidos como dentina e polpa, pois possuem características morfológicas, mecânicas e biológicas específicas para a proliferação celular. Moraes *et al.* (2017) utilizaram *scaffolds* e membranas formadas pela agregação de colágeno e quitosana com aluminato de cálcio em defeitos ósseos intencionais na calvária de coelhos. Estes mesmos autores não verificaram diferenças significativas no reparo ósseo, durante os intervalos de análises, nos defeitos que receberam as membranas. Por outro lado, nos defeitos em que os *scaffolds* foram aplicados houve um aumento significativo desse reparo devido sua estrutura tridimensional e maior porosidade.

Diante disso, *scaffolds* à base de quitosana pura ou associada a outros materiais demonstram grande potencial na indução da regeneração tecidual, posto que há indícios de

respostas inflamatórias favoráveis e atividade de células osteogênicas em fragmentos de tecido ósseo nos quais esse biopolímero é aplicado (Rosendo *et al.*, 2020). Não obstante, a quitosana possui outras aplicações em decorrência de suas diversas propriedades biológicas, dentre elas destacam-se os usos como analgésico e hemostático, além de acelerar a proliferação celular e a organização dos tecidos (Rosendo, 2016).

Destacam-se ainda outras aplicações, uma vez que a quitosana pode atuar como obstáculo contra agentes infecciosos, tornar mínima a deformação cutânea e absorver os fluidos provenientes de feridas (Nicolosi e Moraes, 2005). Portanto, a quitosana é considerada um material altamente eficaz para a confecção não apenas de *scaffolds*, mas também de curativos, Sistemas de Liberação Controlada de Fármacos (SLCF), filmes, bioesferas, fios de sutura, e biomembranas (Croisier e Jérôme, 2013; Malacara; Urenda e Arrocena, 2022; Wasupalli e Verma, 2018).

REFERÊNCIAS

- ABOTALEB, M. *et al.* Therapeutic potential of plant phenolic acids in the treatment of cancer. **Biomolecules**, v. 10, p. 221–228, 2020.
- ADÓN, A. Y.; ECHAVARRÍA, H. M. **Enterococcus faecalis**: factores de virulencia e importancia clínica en el área odontológica. Tese (Doutorado em Odontologia) – Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña, República Dominicana, 78p., 2021.
- AGUIAR, G. A. **Bioatividade antimicrobiana do extrato da Punica granatum em bactérias da doença periodontal**. 2020. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade Maria Milza, Governador Mangabeira-BA, 2020.
- AKKAOUNI, S. *et al.* Chemical Composition, Antimicrobial activity, In Vitro Cytotoxicity and Leukotoxin Neutralization of Essential Oil from *Origanum vulgare* against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. **Pathogens**, v. 9, n. 3, p. 192, 2020.
- AKUZAWA, N.; KURABAYASHI, M. Native Valve Endocarditis Due to *Escherichia Coli* Infection: A Case Report and Review of the Literature. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 18, p. 195, 2018.
- ALELUIA, C. M. *et al.* Fitoterápicos na Odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 27, n.2, p. 126-134, 2017.
- ALI, L. *et al.* Molecular Mechanism of Quorum-Sensing in *Enterococcus faecalis*: Its Role in Virulence and Therapeutic Approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 5, p. 960, 2017.
- ALJAAFARI, M. N. *et al.* An overview of the potential therapeutic applications of essential oils. **Molecules**, v. 26, n. 3, p. 628, 2021.
- AMALRAJ, A. *et al.* Preparation, characterization and antimicrobial activity of polyvinyl alcohol/gum arabic/chitosan composite films incorporated with black pepper essential oil and ginger essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 366-375, 2020.
- AMORESE, V. *et al.* In vitro activity of essential oils against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from infected hip implants. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 12, p. 996–1001, 2018.
- AMPARO, T. R. *et al.* Herbal medicines to the treatment of skin and soft tissue infections: advantages of the multi-targets action. **Phytotherapy Research**, v.34,n.1, p.94-103, 2020.
- ARABACI, T. *et al.* Híbridos homoploides de *Origanum* (Lamiaceae) na Turquia: Evidência morfológica e molecular de um novo híbrido. **Biosistema Vegetal**, v. 5, p. 1-18, 2021.

- ARSHAD, N. *et al.* In vivo screening and evaluation of four herbs against MRSA infections. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 17, p. 1–7, 2017.
- ATASHGAHI, M. *et al.* Epinephrine-Entrapped Chitosan Nanoparticles Covered by Gelatin Nanofibers: A Bi-layer Nano-Biomaterial for Rapid Hemostasis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 5, n. 3, p. 264, 2021.
- BAO VU, N. *et al.* Cicatrização de alvéolos dentários induzida por acemannan: um estudo controlado randomizado de 12 meses. **Journal of Dental Sciences**, v. 16, n. 2, p. 643-653, 2021.
- BARZEGAR, S. *et al.* Coreshell chitosan/PVA-based nanofibrous scaffolds loaded with Satureja mutica or Oliveria decumbens essential oils as enhanced antimicrobial wound dressing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 597, p. 120288, 2021.
- BORA, L. *et al.* An up-to-date review regarding cutaneous benefits of Origanum vulgare L. essential oil. **Antibiotics**, v. 11, n. 5, p. 549, 2022.
- 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.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS: PNPIC-SUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- BRIXNER, B. *et al.* Atividade antimicrobiana da quitosana associada a óleos essenciais na aplicação biomédica: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, e447111436563, 2022.
- BRONDANI, L. P. *et al.* Avaliação das propriedades antienzimáticas do óleo essencial de Origanum vulgare contra Candida Albicans oral. **Journal of Medical Mycology**, v. 28, p. 94–100, 2018.
- ČABARKAPA, I. *et al.* Anti-biofilm activities of essential oils rich in carvacrol and thymol against Salmonella Enteritidis. **Biofouling**, v. 35, n. 3, p. 361-375, 2019.
- CAVALCANTI, V. H. O. **Membranas de quitosana com alginato modificado visando a liberação controlada de sulfadiazina de prata para aplicação em regeneração tecidual**. 2023. 46 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) – Instituto de química, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara-SP, 2023.
- CAVERZAN, J. L. *et al.* A new phytocosmetic preparation from Thymus vulgaris stimulates adipogenesis and controls skin aging process: in vitro studies and topical effects in a double-blind placebo-controlled clinical. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v.1, p. 1-18, 2020.
- CERVINO, G. *et al.* Fem and Von Mises Analysis of OSSTEM(r) Dental Implant Structural Components: Evaluation of Different Direction Dynamic Loads. **Open Dentistry Journal**, v. 12, p. 219-229, 2018.

CHUVASCO J. K. *et al.* Avaliação microbiológica das úlceras de decúbito (escaras). **Revista da Universidade de Alfenas**, v. 5, n. 4, p.211-214, 1999.

CHEUNG, R. *et al.* Chitosan: an update on potential biomedical and pharmaceutical applications. **Drugs**, v.13, p. 5156-5186, 2015.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Atividade Antimicrobiana de Alguns Óleos Essenciais — Status Presente e Perspectivas Futuras. **Medicines**, v. 4, p. 58, 2017.

CONFEDERAT, L. G. *et al.* Preparation and antimicrobial activity of chitosan and its derivatives: A concise review. **Molecules**, v. 26, n. 12, p. 3694, 2021.

CONTI, S. *et al.* Enterobacteriaceae and pseudomonadaceae on the dorsum of the human tongue. **Journal of Applied Oral Science**, v. 17, n. 5, p. 375-380, 2009.

COSTA, M. F. *et al.* Efeitos do carvacrol, timol e óleos essenciais contendo tais monoterpenos na cicatrização de feridas: uma revisão sistemática. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 71, p. 141-155, 2018.

CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 4, p. 780-792, 2013.

CRUZ, M. K. D.; MORAIS, T. M. N. D.; TREVISANI, D. M. Avaliação clínica da cavidade bucal de pacientes internados em unidade de terapia intensiva de um hospital de emergência. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 26, p. 379-383, 2014.

DEPRÉS-TREMBLAY, F. *et al.* Chitosan inhibits platelet-mediated clot retraction, increases platelet-derived growth factor release, and increases residence time and bioactivity of platelet-rich plasma in vivo. **Biomedical Materials**, v. 13, n. 1, p. 015005, 2018.

EL-TARABILY, K. A. *et al.* Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 9, p. 5145-5156, 2021.

ENIOUTINA, E. Y. *et al.* Phytotherapy as an alternative to conventional antimicrobials: combating microbial resistance. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, v. 10, n. 11, p. 1203-1214, 2017.

FADIL, M. *et al.* Combined treatment of *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils against *Salmonella typhimurium*: optimization of antibacterial activity by mixture design methodology. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 126, p. 211-220, 2018.

FANI, M. *et al.* In Vitro Antimicrobial Activity of *Thymus vulgaris* Essential Oil Against Major Oral Pathogens. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 7, p. 1-17, 2017.

FIORILLO, L. *et al.* *Porphyromonas gingivalis*, Periodontal and Systemic Implications: A Systematic Review. **Brazilian Dental Journal**, v. 7, n. 4, p. 114, 2019.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. **Microbiology**, v. 155, n. 6, p. 1749-1757, 2009.

FRATINI, F. *et al.* Uma Nova Interpretação do Índice de Concentração Inibitória Fracionada: O Caso Origanum vulgare L. e Leptospermum scoparium JR et G. Forst Óleos Essenciais contra Cepas de Staphylococcus aureus. **Microbiological Research**, v. 195, p. 11-17, 2017.

FREIRES, M. S; RODRIGUES JUNIOR, O. M. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado da azitromicina frente a Covid-19: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, e31611125035, 2022.

GALOVIČOVÁ, L. *et al.* Thymus vulgaris Essential Oil and Its Biological Activity. **Plants**, v. 10, p. 19-59, 2021.

GERMANO, V. E. *et al.* Microrganismos habitantes da cavidade oral e sua relação com patologias orais e sistêmicas: Revisão de literatura. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, v.16, n.2, p. 91-99, 2018.

GHASEMI-MOBARAKEH, L. *et al.* Key terminology in biomaterials and biocompatibility. **Current Opinion In Biomedical Engineering**, v. 10, n. 2, p. 45-50, 2019.

GNAT, S. *et al.* Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial pathogens isolated from faeces of red deer (Cervuselaphus). **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 20, p. 697-706, 2017.

GYÖRGY, Z.; INCZE, N.; PLUHÁR, Z. Differentiating Thymus vulgaris chemotypes with ISSR molecular markers. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 92, p. 104-118, 2020.

HOLZAPFEL, B. M.; RUDERT, M.; HUTMACHER, D. W. Gerüstträgerbasiertes Knochen-Tissue-Engineering [Scaffold-based Bone Tissue Engineering]. **Orthopade**, v. 46, n. 8, p. 701-710, 2017.

JAHANGIR, M. A. *et al.* Nano Phytomedicine Based Delivery System for CNS Disease. **Current Drug Metabolism**, v. 21, n. 9, p. 661-673, 2020.

JAHANSEPAS, A. *et al.* Occurrence of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium in Various Clinical Infections: Detection of Their Drug Resistance and Virulence Determinants. **Microbial Drug Resistance**, v. 24, n. 5, p.76–82, 2018.

JARIC, S.; MITROVIC, M.; PAVLOVIC, P. Revisão do estudo etnobotânico, fitoquímico e farmacológico de Thymus serpyllum L. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 10, p. 1–10, 2015.

KHAN, S. T. *et al.* Thymol and carvacrol induce autolysis, stress, growth inhibition and reduce the biofilm formation by Streptococcus mutans. **AMB Express**, v. 7, n. 1, p. 49, 2017.

KHOSHBAKHT, Z. *et al.* Avaliação de colutórios à base de plantas contendo Zataria Multiflora Boiss, Frankincense e terapia combinada em pacientes com gengivite: um

ensaio clínico duplo-cego, randomizado, controlado. **Galen Medical Journal**, v. 8, p. 1366, 2019.

KHOZEIMEH, F. *et al.* Effect of Herbal Echinacea on Recurrent Minor Oral Aphthous Ulcer. **Open Dentistry Journal**, v. 12, p. 567-571, 2018.

KOSAKOWSKA, O. *et al.* Antioxidant and antibacterial activity of essential oils and hydroethanolic extracts of Greek oregano (*O. vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart) and common oregano (*O. vulgare* L. subsp. *vulgare*). **Molecules**, v. 26, n. 4, p. 988, 2021.

KUETE, V. *Thymous vulgaris*. In: _____. (org.). **Medicinal Spices and Vegetables from Africa**. Elsevier Inc., 2017. p. 599–609.

LAMARRA, J. *et al.* Electrospun nanofibers of poly (vinyl alcohol) and chitosan-based emulsions functionalized with cabreuva essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 307-318, 2020.

LEITE, E. L. **Aderência de Escherichia coli em diferentes tempos de armazenagem e adesão de elementos sanguíneos em materiais restauradores odontológicos**. 2016. 102 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa-PR, 2016.

LEVINSON, W. **Microbiologia médica e imunologia**. 13. Ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

LIMA, F. O. *et al.* Avaliação do potencial antiaderente do óleo de lavanda contra cepa de Escherichia coli. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, e22810817225, 2021.

LINO, A. S. D. **Efecto del tomillo (Thymus vulgaris) en la cicatrización de heridas cutaneas inducidas en cuyes, Huanuco**. 2021. 120 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Nacional Hermilio Valdizán, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Huanuco, Peru, 2021.

LINS, R. X. *et al.* Antimicrobial resistance and virulence traits of Enterococcus faecalis from primary endodontic infections. **Journal of Dentistry**, v.41, n.9, p.779-786, 2013.

LIU, Q. *et al.* Immune and Inflammatory Reponses to Staphylococcus aureus Skin Infections. **Current Dermatology Reports**, v. 7, p. 338–349, 2018.

LIU, X. C. *et al.* Curcuminreleasing chitosan/aloe membrane for skin regeneration. **Chemical Engineering Journal**, v. 359, p. 1111-1119, 2019.

LOMBARDI, T. *et al.* Efficacy of Alveolar Ridge Preservation after Maxillary Molar Extraction in Reducing Crestal Bone Resorption and Sinus Pneumatization: A Multicenter Prospective Case-Control Study. **BioMed Research International**, v. 3, p. 1-15, 2018.

LOMBREA, A. *et al.* A Recent Insight Regarding the Phytochemistry and Bioactivity of Origanum vulgare L. Essential Oil. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, p. 53-96, 2020.

- LOPES, K. S. *et al.* Aplicações e possibilidades terapêuticas do uso do biomaterial quitosana para a Odontologia: revisão da literatura. **Archives of Health Investigation**, v. 9, n. 6, p. 587-591, 2020.
- LYSAKOWSKA, M. E. *et al.* The cultivable microbiota of primary and secondary infected root canals, their susceptibility to antibiotics and association with the signs and symptoms of infection. **International Endodontic Journal**, v.49, n.5, p.422-430, 2016.
- MADNI, A. *et al.* Fabrication and characterization of chitosan-vitamin C-lactic acid composite membrane for potential skin tissue engineering. **International Journal of Polymer Science**, p. 1-8, 2021.
- MAHBOUBI, M. *et al.* Antimicrobial activity and chemical composition of Thymus species and Zataria multiflora essential oils. **Agriculture and Natural Resources**, v. 51, p. 395–401, 2017.
- MALACARA, K. D. P.; URENDA, M. A. O.; ARROCENA, M. C. A. Antimicrobial effectiveness of chitosan as a suture coating in oral and maxillofacial surgery: a systematic review. **Odontoestomatologia**, v. 24, p. 1-12, 2022.
- MANDAL, S.; DEBMANDAL, M. Thyme (*Thymus vulgaris* L.) oils. *In*: PREEDY, V. (Ed.). **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. London: Academic Press, 2016. p. 825-834.
- MARINO, A. *et al.* Ampicillin Plus Ceftriaxone Regimen against *Enterococcus faecalis* Endocarditis: A Literature Review. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 4, p. 45-94, 2021.
- MARTÍNEZ, C. C. *et al.* Baja frecuencia de *Enterococcus faecalis* em mucosa oral de sujetos que acuden a consulta odontológica. **Revista da Faculdade de Odontologia da Universidade de Antioquia**, v. 26, n.2, p. 1-17, 2015.
- MATICA, M. A. *et al.* Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 23, p. 5889, 2019.
- MEDEIROS, G. C. L.; VASCONCELOS, F.; OLIVEIRA, C. O. Influência da terapia fotodinâmica antimicrobiana em bactérias *enterococcus faecalis* nos canais radiculares de dentes anteriores. **Revista Científica UMC**, v. 3, p. 1-4, 2020.
- MEDEIROS, L. A. D. M. *et al.* Esferas de quitosana/D. ambrosioides (mastruz) para aplicação como biomaterial. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 73, n. 2, 124-129, 2016.
- MILTINOVICI, R. *et al.* Vegetal Compounds as Sources of Prophylactic and Therapeutic. **Plantas (Basileia)**, v. 3, p. 21-48, 2021.
- MORAES, P. C. *et al.* Repair of Bone Defects with Chitosan-Collagen Biomembrane and Scaffold Containing Calcium Aluminate Cement. **Brazilian Dental Journal**, v. 28, n. 3, p. 287-295, 2017.

MOTA, I. B. O. *et al.* Fitoterapia na odontologia: Levantamento dos principais produtos fitoterápicos usados para a saúde bucal. **Revista Psicologia e Saúde em Debate**, v. 4, n. suppl1, p. 71-71, 2018.

MOUSSA, D. G.; APARICIO, C. Present and future of tissue engineering scaffolds for dentin-pulp complex regeneration. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 13, n. 1, p. 58-75, 2019.

MUTHU, J.; MUTHANANDAM, S. Periodontitis and Respiratory Diseases: What Does the Recent Evidence Point to?. **Current Oral Health Reports**, v.5, n.1, p. 63-69, 2018.

NEVES, P. K. F.; LIMA, A. C. S. M. D.; MARANHÃO, V. F. Importância do cirurgião-dentista na Unidade de Terapia Intensiva. **Odontologia Clínico-Científica/ Scientific-Clinical**, v. 4, p. 37-45, 2021.

NICOLOSI, J. G.; MORAES, A. M. **Biomateriais destinados à terapia de queimaduras: estudo entre o custo e o potencial de efetividade de curativos avançados**. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. 2005.

NOGUEIRA, J. M. R.; MIGUEL, L. F. S. Bacteriologia. *In*: MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. (org.). **Conceitos e métodos para a Formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV/Fiocruz, 2009. v. 4, cap. 3, p.221-397, 2009.

OK, E.; ADANIR, N.; HAKKI, S. Comparação da citotoxicidade de várias concentrações de solução de extrato de origanum com gluconato de clorexidina a 2% e hipoclorito de sódio a 5,25%. **European Journal of Dentistry**, v. 9, n. 1, p. 6-10, 2015.

OLIVEIRA, V. B.; MEZZOMO, T. R.; MORAES, E. F. Conhecimento e Uso de Plantas Medicinais por Usuários de Unidades Básicas de Saúde na Região de Colombo/PR. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v.22, n.1. 2018.

ONINGA, I. *et al.* Origanum vulgare Ssp. Vulgare: Composição Química e Estudos Biológicos. **Molecules**, v. 23, p. 23-77, 2018.

PACE, M. A. *et al.* Staphylococcus spp. na saliva de pacientes com intubação oro-traqueal. **Revista panamericana de infectología**, v. 10, n. 2, p. 8-12, 2008.

PARETSIS, N. F. *et al.* Avaliação histológica e histomorfométrica da regeneração óssea a partir da utilização de biomateriais em tíbias de ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 12, p. 1537-1544, 2017.

PATIL, S. M. *et al.* A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn. **Heliyon**, v. 7, e07054, 2021.

PECULIENE, V. *et al.* Isolation of yeasts and enteric bacteria in root filled teeth with chronic apical periodontitis. **International Endodontic Journal**, v. 34, p. 429-34, 2001.

PENG, X. *et al.* Oral microbiota in human systematic diseases. **International Journal of Oral Science**, v. 7, p. 1-14, 2022.

PEREIRA, H. F. *et al.* Scaffolds and coatings for bone regeneration. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 31, n. 3, p. 1-27, 2020.

PEZZANI, R.; VITALINI, S.; IRITI, M. Bioatividades de *Origanum vulgare* L.: uma atualização. **Revista Fitos**, v. 16, p. 1253-68, 2017.

PUVACA, N.; FRUTOS, R. D. L. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Strains Isolated from Humans and Pet Animals. **Antibiotics**, v. 10, n. 4, p. 69, 2021.

RAGI, J. *et al.* Oregano extract ointment for wound healing: a randomized, double-blind, petrolatum-controlled study evaluating efficacy. **Journal of Drugs in Dermatology**, v. 10, p.1168-72, 2011.

RASH, H. *et al.* Um estudo in vitro para avaliar o efeito antibacteriano óleo essencial de *Thymus Vulgaris* Contra *Porphyromonas Gingivalis* em Curdistão-Iraque. **Jornal Indiano de Medicina Forense e Toxicologia**, v. 14, n. 3, p.1289-1296, 2020.

REN, Q. *et al.* Fabrication of super-hydrophilic and highly openporous poly (lactic acid) scaffolds using supercritical carbon dioxide foaming. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 205, p. 740-748, 2022.

RIAZ RAJOKA, M. S. *et al.* Chitin/chitosan derivatives and their interactions with microorganisms: a comprehensive review and future perspectives. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 40, n. 3, p. 365-379, 2020.

RICE, L. B. Enterococcal Physiology and Antimicrobial Resistance: The Streetlight Just Got a Little Brighter. **mBio – ASM Journals**, v. 12,e03511–e03520, 2021.

RODRIGUES, A. C. *et al.* Botanical, phytochemical and antimicrobial aspects of *Thymus vulgaris* (Lamiaceae): a brief review of literature. **Diversitas Journal**, Santana do Ipanema/AL, v. 7, n. 4, p. 2605-2614, 2022.

RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, M. *et al.* Chitosan and its potential use as a scaffold for tissue engineering in regenerative medicine. **BioMed Research International**, v. 2, p. 1-12, 2015.

ROLLIM, V. M. *et al.* Comportamento de diferentes tipos de membranas de quitosana implantadas em equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, n. 10, p. 837-842, 2019.

ROMAY, E. *et al.* On Behalf Of *Lucus Augusti* And Hospital Clinic Endocarditis Teams. Relationship among *Streptococcus gallolyticus* Subsp. *gallolyticus*, *Enterococcus faecalis* and Colorectal Neoplasms in Recurrent Endocarditis: A Historical Case Series. **Journal of Clinical Medicine**, v. 11, n. 5, p. 21-81, 2022.

ROSATO, A. *et al.* Anti-biofilm inhibitory synergistic effects of combinations of essential oils and antibiotics. **Antibiotics**, v. 9, n. 10, p. 620-637, 2020.

- ROSENDO, R. A. **Desenvolvimento e caracterização de scaffolds de quitosana/Cissus verticillata (L.) Nicolson& C.E. Jarvis**. 2016. 161 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais) – UFCG, Campina Grande, 2016.
- ROSENDO, R. A. *et al.* Estruturas de quitosana utilizadas para regeneração óssea in vivo: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 9, n.7, e891974538, 2020.
- ROSSI, E. *et al.* “It’s a Gut Feeling”—Escherichia Coli Biofilm Formation in the Gastrointestinal Tract Environment. **Critical Reviews in Microbiol**, v. 44, p. 1-30, 2018.
- SAMPAIO, L. T. R.; OLIVEIRA, H. M. B. F.; OLIVEIRA FILHO, A. A. Atividade antimicrobiana da Melaleuca alternifolia e sua aplicação na Odontologia. **Archives of Health Investigation**, v. 10, n. 2, p. 318-322, 2022.
- SANTOS, B. C. **Uso de adesivos teciduais a base de cianoacrilato**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Centro Universitário Uniguairacá, Guarapuava-PR, p. 23, 2021.
- SANTOS, E. P. *et al.* Chitosan/essential oils formulations for potential use as wound dressing: physical and antimicrobial properties. **Materials**, v. 12, n. 14, p. 2223, 2019.
- SANTOS, R. *et al.* Óleo essencial de Thymus vulgaris: elaboração de enxaguatório bucal e avaliação do efeito in vitro na formação da placa bacteriana. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 6, p. 941-947, 2010.
- SANTOS, S. S. F. *et al.* Prevalência e sensibilidade in vitro de enterobacteriaceae e pseudomonas isoladas da cavidade bucal e bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica. **Revista de Pós-Graduação em Odontologia**, v. 5, n. 2, p. 1-17, 2002.
- SANTOS, T. B. *et al.* A inserção da Odontologia em Unidades de Terapia Intensiva. **Journal of Health Sciences**, v. 19, n. 2, p. 83-88, 2017.
- SARRI, D. R. A.; AUGUSCO, M. A. C.; SCAPIN, E. Plantas medicinais e fitoterápicos na clínica odontológica: uma revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 10, e217111032663, 2022.
- SEDGLEY, C. M.; LENNAN, S. L.; APPELBE, O. K. Survival of Enterococcus faecalis in root canals ex vivo. **International Endodontic Journal**, v. 38, n. 10, p. 735-42, 2005.
- SHARIATINIA, Z. Pharmaceutical applications of chitosan. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 263, p. 131-194, 2019.
- SHARMA, A. *et al.* An Overview of Phytotherapy Used in the Management of Type II Diabetes. **Current Diabetes Reviews**, v. 17, p. 1-18, 2021.
- SILVA, E. F.; VIEIRA, T. J. N.; GURGEL, G. C. D. L. Atividade biológica “in vitro” do fitoconstituente timol sobre espécies do gênero Candida. **Revista de Pesquisa Interdisciplinar**, v. 2, p. 677-685, 2017.

SILVA, L. O. P.; NOGUEIRA, J. M. R. Uso de bacteriófagos como alternativa no controle de infecções bacterianas. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 11, e200111133619, 2022.

SILVA, S. L. *et al.* Evaluation of the antimicrobial effect of the *Origanum vulgare* L essential oil on strains of *Klebsiella pneumoniae*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. 1-10, 2023.

SIQUEIRA JÚNIOR, F. *et al.* Microbiological evaluation of acute periradicular abscesses by DNA-DNA hybridization. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics**, v. 92, p. 451-7, 2001.

SIQUEIRA, R. *et al.* Uso de plantas medicinais em odontologia: um estudo transversal. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 3, p. 1-13, 2022.

SOLTANI, S. *et al.* A Review of the Phytochemistry and Antimicrobial Properties of *Origanum vulgare* L. and Subspecies. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 20, p. 268–285, 2021.

SOOLARI, A.; SOOLARI, A.; FIELDING, C. Inflamed Odontogenic Cyst with *Actinomyces* Colonization: Management of an Atypical Case in a 16-Year-Old Patient. **The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry**, v. 40, n. 2, p. 35–41, 2020.

SOUZA, A. P. C. **Síntese e caracterização de scaffolds porosos e membranas de Quitosana-Xantana associados a nanocompósitos de Hidroxiapatita-Óxido de Grafeno para regeneração tecidual**. 2022. 70 f. Dissertação (Mestrado em Materiais Dentários) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba-SP, 2022.

SREENIVASAN, P. K.; HARASZTHY, V.; RAYELA, C. C. Efeitos antimicrobianos em microambientes orais por uma nova pasta de dente de ervas. **Contemporary Clinical Trials Communications**, v. 21, p. 1-15, 2020.

SULTANKULOV, B. *et al.* Progress in the development of chitosan-based biomaterials for tissue engineering and regenerative medicine. **Biomolecules**, v. 9, n. 9, p. 470, 2019.

TADA, A. *et al.* Effect of thymoquinone on *Fusobacterium nucleatum*-associated biofilm and inflammation. **Molecular Medicine Reports**, v. 22, n. 2, p. 643-650, 2020.

TAN, C. A. Z. *et al.* *Enterococcus faecalis* Antagonizes *Pseudomonas aeruginosa* Growth in Mixed-Species Interactions. **Journal of Bacteriology**, v. 204, n. 7, p. 1-18, 2022.

TEIXEIRA, D. A. **Microbiologia básica**. 3. Ed. Teófilo Otoni: Núcleo de Investigação Científica e Extensão (NICE), 2020.

TERRA, M. R. *et al.* *Enterococcus* spp and *Staphylococcus aureus* in pressure in injury. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR**, v. 18, n. 2, p. 141-148, 2017.

TIWARI, G. *et al.* Eficácia antimicrobiana de óleos essenciais de plantas comercialmente disponíveis com hidróxido de cálcio como medicamentos intracanaís contra *Enterococcus faecalis*: um estudo in vitro. **Jornal de Ciências Odontológicas e Médicas**, v. 17, n. 6, p. 19-24, 2018.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. Ed. São Paulo: Artmed, 2016.

TRUJILLO, Y.M. **Grado de Contaminación Microbiana de los Cepillos dentales guardados en el baño y dormitorio de los Estudiantes de Odontología de La Universidad de Huánuco**. (2017). Tesis para optar el título profesional de cirujano dentista, 2018.

VAN HARTEN, R. M. *et al.* Multidrug-Resistant Enterococcal Infections: New Compounds, Novel Antimicrobial Therapies?. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 5, p.467-479, 2017.

VOUILLAMOZ, J. F.; CHRIST, B. *Thymus vulgaris* L.: Tomilho. *In*: NOVAK, V.; BLÜTHNER, W. D. (Eds.). **Plantas medicinais, aromáticas e estimulantes**. Springer, 2020. p. 547-557.

WASUPALLI, G. K.; VERMA, D. Molecular interactions in self-assembled nano-structures of chitosan-sodium alginate-based polyelectrolyte complexes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, n. 4, p. 10-17, 2018.

WECKWERTH, P. H. *et al.* In Vitro Alkaline pH Resistance of *Enterococcus faecalis*. **Brazilian Dental Journal**, v.24, n.5, p.1-19, 2013.

WIJESUNDARA, N. M.; RUPASINGHE, H. V. Essential oils from *Origanum vulgare* and *Salvia officinalis* exhibit antibacterial and anti-biofilm activities against *Streptococcus pyogenes*. **Microbial Pathogenesis**, v. 117, p. 118-27, 2018.

WU, S. *et al.* Nanographene oxides carrying antisense *walR* RNA regulates the *Enterococcus faecalis* biofilm formation and its susceptibility to chlorhexidine. **Journal in Applied Microbiology**, v. 71, n. 5, p. 451-458, 2020.

YAKUP, M. S. *et al.* Constituintes fitoquímicos, atividades biológicas e efeitos de promoção da saúde do gênero *Origanum*. **Revista Fitos**, v. 35, p. 95-121, 2020.

ARTIGO

POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE *SCAFFOLDS* DE QUITOSANA INCORPORADOS AOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ORÉGANO E TOMILHO CONTRA CEPAS DE *Enterococcus faecalis* E *Escherichia coli*

ANTIBACTERIAL POTENTIAL OF CHITOSAN SCAFFOLDS INCORPORATED IN ESSENTIAL OILS OF OREGAN AND THYME AGAINST STRAINS OF *Enterococcus faecalis* AND *Escherichia coli*

**José Lucas Medeiros Torres¹
Abrahão Alves de Oliveira Filho²**

RESUMO: OBJETIVO: O presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial antibacteriano de *scaffolds* à base de quitosana incorporados aos óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. contra cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*. **METODOLOGIA:** O potencial antibacteriano foi avaliado através da leitura dos halos de inibição formados ao redor dos *scaffolds* à base de quitosana incorporados com OE de tomilho, OE de orégano e OE de tomilho e orégano contra cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*, utilizando a metodologia de difusão em Ágar Mueller Hinton por poço. Para tal, como meio de cultura em placas de Petri foi utilizado o Ágar Mueller Hinton, e foram formados orifícios de 6 mm de diâmetro com auxílio de um molde originando os poços. As placas foram inoculadas na superfície pelo microrganismo com o uso de um swab, então foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 horas. *Scaffolds*, em forma de discos, foram depositados assepticamente nos poços dos meios inoculados, os quais foram incubados a 37 °C por 24 horas. Após a incubação, as placas foram observadas quanto à homogeneidade do crescimento bacteriano, sendo realizada a medição do diâmetro do halo inibitório, com auxílio de uma régua milimétrica, nos casos em que foi verificada inibição do crescimento das bactérias. Os testes foram realizados em duplicata e os resultados correspondem aos valores médios. **RESULTADOS:** Observou-se que a associação da quitosana com os OEs de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. possui atividade antibacteriana contra as cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*. Para os *scaffolds* incorporados com o OE de *Origanum vulgare* L. obteve-se a formação de halos de inibição de 14 e 16 mm para as cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*, respectivamente. Para os *scaffolds* incorporados com o OE de *Thymus vulgaris* L. obteve-se também a formação de halos de inibição de 14 e 16 mm para as cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*, respectivamente. Já para os *scaffolds* incorporados com a associação entre os OEs de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. obteve-se a formação de halos de inibição de 12 e 16 mm para as cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*, respectivamente. **CONCLUSÃO:** A associação da quitosana com os OEs de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. possui atividade antibacteriana, comportando-se como bactericida contra as cepas testadas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*.

Palavras-chave: Fitoterapia; Materiais biocompatíveis; Odontologia.

¹Graduando em Odontologia pela Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. E-mail: jose.torres@estudante.ufcg.edu.br

²Doutor em Farmacologia. Docente do curso de em Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. E-mail: abrahao.alves@professor.ufcg.edu.br

ABSTRACT: OBJECTIVE: This study aimed to evaluate the antibacterial potential of chitosan-based scaffolds incorporated with essential oils of *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. against strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*. **METHODS:** The antibacterial potential was evaluated by reading the inhibition halos formed around chitosan-based scaffolds incorporated with thyme EO, oregano EO and thyme and oregano EO against strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*, using the well agar diffusion methodology. For this, Mueller Hinton Agar was used as a culture medium in Petri dishes, and holes of 6 mm in diameter were formed with the aid of a mold, originating the wells. The plates were inoculated on the surface by the microorganism using a swab, then they were incubated in a bacteriological oven at 37 °C for 24 hours. Scaffolds, in the form of disks, were aseptically deposited in the wells of the inoculated media, which were incubated at 37 °C for 24 hours. After incubation, the plates were observed for the homogeneity of bacterial growth, and the measurement of the diameter of the inhibitory halo was carried out, with the aid of a millimeter ruler, in cases where inhibition of bacterial growth was verified. Tests were performed in duplicate and results correspond to mean values. **RESULTS:** It was observed that the association of chitosan with the EOs of *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. has antibacterial activity against strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*. For the scaffolds incorporated with the EO of *Origanum vulgare* L., the formation of inhibition halos of 14 and 16 mm was obtained for the strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*, respectively. For the scaffolds incorporated with the EO of *Thymus vulgaris* L., the formation of inhibition halos of 14 and 16mm was also obtained for the strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*, respectively. As for the scaffolds incorporated with the association between the EOs of *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L., the formation of inhibition halos of 12 and 16mm was obtained for the strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*, respectively. **CONCLUSION:** The association of chitosan with the EOs of *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. has antibacterial activity, acting as a bactericide against the tested strains of *Enterococcus faecalis* and *Escherichia coli*.

Keywords: Phytotherapy; Biocompatible materials; Dentistry.

INTRODUÇÃO

A cavidade oral apresenta uma ampla densidade microbiana, compreendendo desde bactérias, fungos, vírus até protozoários, que interagem entre si e com o hospedeiro desempenhando funções específicas no processo saúde-doença (Silva *et al.*, 2023). A união de bactérias em cooperação resulta na formação de uma complexa matriz com potencial aderente tanto a superfícies bióticas quanto abióticas e que pode ser chamada de biofilme, a qual é constituída por componentes orgânicos advindos destes microrganismos ou adquiridos do meio em que se encontra estabelecida (Lima *et al.*, 2021).

Não raro, tem-se conhecimento que as infecções orais são o principal motivo de consultas e intervenções odontológicas, sendo a formação do biofilme a primeira etapa para o estabelecimento dessas desordens (Rosato *et al.*, 2020). Alterações na ecologia de bactérias que compõem o biofilme, assim como na proporção populacional dessa microbiota,

promovem uma disbiose e favorecem o surgimento de estados patológicos simples ou até mesmo complexos (Germano *et al.*, 2018).

Os biofilmes disbióticos polimicrobianos podem ser mais tolerantes a tratamentos com fármacos antimicrobianos e resistentes às respostas imunes do organismo hospedeiro, permitindo a sobrevivência e persistência de algumas bactérias, como a *Enterococcus faecalis* e a *Escherichia coli*, que têm potencial relação com infecções em feridas orais, periodontites, peri-implantites e infecções no sistema de canais radiculares (Tan *et al.*, 2022). Assim sendo, a busca por alternativas no controle de microrganismos resistentes tem despertado grandes interesses científicos, ampliando a utilização de biomateriais e fitoterápicos na saúde (Rice, 2021).

Os biomateriais são dispositivos compatíveis com os tecidos orgânicos, podendo ser de origem natural ou sintética, utilizados na saúde para fins diagnósticos e/ou terapêuticos (Ghasemi-Mobarakeh *et al.*, 2019). Dentre os biomateriais está a quitosana, sendo esta um biopolímero linear com ação anti-inflamatória e antimicrobiana, derivado da quitina e um possível candidato para aplicação no tratamento de doenças orais infecto-inflamatórias (Atashgahi *et al.*, 2021).

Dessa forma, ressalta-se que a quitosana evidencia boas perspectivas para aplicações odontológicas em infecções periodontais, tratamentos endodônticos, adesão de materiais restauradores ao substrato dentário, reparos teciduais, hemostasias, formação de células odontoblásticas em tratamentos do complexo dentino-pulpar e cicatrização de feridas (Lopes *et al.*, 2020). Além disso, esse biomaterial pode ser empregado para complementar e melhorar as propriedades de revestimentos de fios de sutura atualmente comerciais, reduzindo infecções pós-operatórias e acelerando o processo de cicatrização em cirurgias bucomaxilofaciais (Malacara; Urenda e Arrocena, 2022).

Em detrimento da biodegradação lenta e contínua da molécula de quitosana, drogas sintéticas e vegetais podem ser incorporadas a este biopolímero para atuarem no processo de reparação tecidual, hemostasia, analgesia, bem como outras propriedades (Silva; Vieira e Gurgel, 2017). Dentre as drogas vegetais que podem ser associadas aos biopolímeros a fim de potencializar seus efeitos destacam-se os óleos essenciais, que são compostos naturais, complexos, líquidos e voláteis, obtidos como produtos do metabolismo secundário de plantas aromáticas, que apresentam componentes com inúmeras propriedades farmacológicas, entre elas a atividade antimicrobiana (Aljaafari *et al.*, 2021; Amalraj *et al.*, 2020).

Dentre os mecanismos de ação dos óleos essenciais, acredita-se que a maioria atue na membrana celular e na parede celular microbiana (El-Tarabily *et al.*, 2021). Alguns

compostos, a exemplo dos terpenos, são capazes de interagir com células bacterianas e promoverem atividade bacteriostática ou bactericida em decorrência de grupos hidroxila, além de serem responsáveis por efeitos antifúngicos, antiparasitários, antioxidantes, anti-inflamatórios e antitumorais (Bora *et al.*, 2022; Čabarkapa *et al.*, 2019).

O *Thymus vulgaris* L., popularmente conhecido como tomilho, pertencente à família Lamiaceae, é uma erva medicinal aromática amplamente utilizada na indústria alimentícia como tempero e que apresenta compostos fenólicos como timol, carvacrol e p-cimeno (Rodrigues *et al.*, 2022). Semelhante ao tomilho, o *Origanum vulgare* L., popularmente chamado de orégano, também pertence à família Lamiaceae e apresenta inúmeras substâncias farmacológicas bioativas com potencial terapêutico (Kosakowska *et al.*, 2021).

Dessarte, os óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.) são substâncias naturais que suscitam um crescente interesse científico em razão de seus isômeros de fenol monoterpênicos: carvacrol (que possui cor amarelo claro, odor pungente e aromático) e o timol (substância branca com odor aromático e sabor acre), que exercem atividade antimicrobiana, lesam as membranas plasmáticas lipídicas, interferem na homeostase do pH e no equilíbrio de íons orgânicos, comprometem a divisão celular e promovem desidratação nas células bacterianas (Silva *et al.*, 2023). Assim sendo, visando aumentar a ação antimicrobiana, a associação de óleos essenciais à quitosana é considerada relevante, uma vez que possuem inúmeras propriedades farmacológicas, além de serem biocompatíveis e biodegradáveis (Brixner *et al.*, 2022).

Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial antibacteriano de *scaffolds* à base de quitosana incorporados aos óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. contra cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*.

METODOLOGIA

SCAFFOLDS DE QUITOSANA

Os *scaffolds* de quitosana pura e quitosana incorporada aos óleos essenciais de tomilho e orégano utilizados no presente trabalho foram provenientes do estudo de Silva (2023). A confecção destes *scaffolds* foi realizada segundo o processo de liofilização obtido a partir de adaptações de Cruz *et al.* (2016).

ESPÉCIES BACTERIANAS E MEIO DE CULTURA

Os microrganismos utilizados no presente estudo foram as cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC-29212) e *Escherichia coli* (CCCD-E003), provenientes do Laboratório de Microbiologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas (UACB) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). As cepas foram mantidas em meio Ágar Muller Hinton (AMH) a uma temperatura de 4 °C, sendo utilizados para os ensaios repiques de 24 horas em AMH incubados a 35 °C. No estudo da atividade antibacteriana 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 (Hadacek e Grege, 2000; Lorian, 1991).

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS SCAFFOLDS DE QUITOSANA INCORPORADOS COM ÓLEOS ESSENCIAIS

Os testes microbiológicos foram realizados com o intuito de determinar se os *scaffolds* de quitosana incorporados com OE de tomilho, OE de orégano e OE de tomilho e orégano são capazes de inibir o crescimento das bactérias *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*, pela metodologia de difusão em ágar por poço.

A técnica para o teste foi desenvolvida segundo Bona *et al.* (2014), com modificações. Para tal, como meio de cultura em placas de Petri foi utilizado o Ágar Mueller Hinton. As placas foram inoculadas na superfície pelos microrganismos com o uso de um swab. Posteriormente foram formados orifícios de 6 mm de diâmetro com auxílio de um molde originando os poços.

Scaffolds, em forma de discos, foram depositados assepticamente nos poços dos meios inoculados, os quais foram incubados a 37 °C por 24 horas. Após a incubação, as placas foram observadas quanto à homogeneidade do crescimento bacteriano, sendo realizada a medição do diâmetro do halo inibitório, com auxílio de uma régua milimétrica, nos casos em que foi verificada inibição do crescimento das bactérias. Os testes foram realizados em duplicata e os resultados correspondem aos valores médios.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O aumento da resistência bacteriana aos fármacos atualmente comercializados incentivou a busca por novas alternativas terapêuticas no combate às infecções bacterianas, sejam elas locais ou generalizadas (Aljaafari *et al.*, 2021). Dentre as principais alternativas que têm demonstrado resultados promissores frente a esta problemática estão a fitoterapia e o emprego de biomateriais à base de quitosana. Estas opções destacam-se por serem menos onerosas, mais acessíveis, apresentarem composição natural e menos efeitos colaterais (Sharma *et al.*, 2021). Nesse contexto, a associação de produtos naturais que possuem propriedades farmacológicas com biopolímeros naturais que têm por objetivo substituir e/ou tratar algum componente do organismo é de substancial relevância para a Odontologia (Sobczyk *et al.*, 2021). No presente estudo foi avaliada a atividade antibacteriana produzida a partir da interação entre os óleos essenciais de orégano e tomilho com *scaffolds* à base de quitosana contra cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*.

ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DE *SCAFFOLDS* COM E SEM A INCORPORAÇÃO AOS ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA *Enterococcus faecalis*

A partir dos bioensaios de difusão em ágar pelo método do poço, verificou-se que tanto o biopolímero puro quanto o biopolímero incorporado às drogas vegetais testadas contra a cepa ATCC-29212 inibiram seu crescimento, com formação de halos de inibição ao redor dos poços onde foram depositados os discos de *scaffolds*. Dessa forma, todos os *scaffolds* de quitosana avaliados, com e sem a associação às drogas vegetais, apresentaram efeito antibacteriano contra a cepa de *Enterococcus faecalis*. A Tabela 1 ilustra as medidas dos halos típicos de inibição do crescimento bacteriano produzidos pela ação dos *scaffolds* de quitosana

pura, quitosana com OE de orégano ou tomilho a 3%, 4% e 5%, e *scaffolds* de quitosana com OE de orégano e tomilho a 6%, 8% e 10%.

Tabela 1. Avaliação da atividade antibacteriana de *scaffolds* à base de quitosana incorporados aos óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. contra *Enterococcus faecalis*.

| <i>Scaffolds</i> de quitosana com e sem a incorporação dos óleos essenciais de <i>Origanum vulgare</i> L. e <i>Thymus vulgaris</i> L. | Diâmetro do halo de inibição contra <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC-29212 |
|---|---|
| Quitosana (controle) | 12 mm |
| QOEO 3% | 14 mm |
| QOEO 4% | 14 mm |
| QOEO 5% | 14 mm |
| QOET 3% | 14 mm |
| QOET 4% | 14 mm |
| QOET 5% | 14 mm |
| QOEOT 6% | 12 mm |
| QOEOT 8% | 12 mm |
| QOEOT 10% | 12 mm |

Legenda: QOEO: Quitosana incorporada ao óleo essencial de *Origanum vulgare* L. QOET: Quitosana incorporada ao óleo essencial de *Thymus vulgaris* L. QOEOT: Quitosana incorporada aos óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L.

Fonte: Acervo do autor (2023).

Para o teste de difusão em ágar por poço foram considerados com atividade inibitória os halos com diâmetro ≥ 6 mm (Bona *et al.*, 2014). Assim sendo, verificou-se que os *scaffolds* à base de quitosana pura, bem como àqueles incorporados às drogas vegetais, foram capazes de demonstrar efeito antibacteriano contra a cepa de *Enterococcus faecalis* avaliada no presente trabalho.

Não raro, tem-se conhecimento que a quitosana é um biopolímero que apresenta atividades promissoras na produção de biomateriais com propriedades biomédicas, a qual possui ação antimicrobiana considerável (Brixner *et al.*, 2022). Um dos principais mecanismos que justificam a ação antimicrobiana da quitosana é a sua capacidade de interação com o DNA microbiano, pela qual os produtos da hidrólise de sua molécula afetam a síntese de proteínas em detrimento da inibição do RNA mensageiro (Matica *et al.*, 2019).

Dessarte, os *scaffolds* à base quitosana pura (grupo controle) revelaram ação antibacteriana contra a cepa ATCC-29212, sendo formado um halo de inibição de 12 mm. Este resultado corrobora com o estudo de Blanco (2011), que destacou a atividade antibacteriana de nanopartículas de quitosana sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, comprovando que este biopolímero apresenta ação antibacteriana contra cepas Gram-positivas. Além disso, Zhang *et al.* (2021) também comprovaram atividade antibacteriana a partir de curativos de quitosana associados a colágeno sobre cepas bacterianas tanto Gram-positivas quanto Gram-negativas.

Os óleos essenciais, por sua vez, são caracterizados por um elevado nível de componentes fenólicos, como o carvacrol, o timol e o p-cimeno, que possuem importantes propriedades antibacterianas, antifúngicas, anti-inflamatórias e antioxidantes (Seow *et al.*, 2014). Para tanto, visando potencializar a ação antimicrobiana, a associação de óleos essenciais a biopolímeros de origem natural, como a quitosana, é de grande relevância científica (Brixner *et al.*, 2022).

Em concordância com estes estudos, os resultados da presente pesquisa demonstraram que a associação da quitosana com o OE de orégano, em todas as concentrações testadas (3%, 4% e 5%), demonstrou efeito antibacteriano contra a cepa de *Enterococcus faecalis*. Galindo *et al.* (2019) avaliaram a atividade antimicrobiana e antioxidante de filmes comestíveis de gelatina e quitosana associados aos OEs de orégano e alecrim. Estes autores comprovaram que os filmes contendo OEs foram capazes de desenvolver os efeitos analisados, sendo relatada maior eficácia para o filme impregnado com OE de orégano. Koosehbol *et al.* (2017), desenvolveram filmes de quitosana com fumarato de polietileno glicol (PEGF), e timol – composto presente nos OEs de orégano e tomilho, e avaliaram sua ação antibacteriana, observando efeitos sinérgicos contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas.

Para todas as concentrações avaliadas neste estudo, a associação entre a quitosana e o OE de tomilho também apresentou efeito inibitório contra a proliferação bacteriana, formando halos de inibição de até 14 mm, sendo comprovada a atividade antibacteriana das supraditas substâncias contra a cepa de *Enterococcus faecalis*. Semelhantemente a estes resultados, Boruga *et al.* (2014) classificaram o efeito do OE de tomilho como muito forte contra *Staphylococcus aureus*, *E. faecalis*, *Candida albicans*, *Salmonella typhimurium* e *Pseudomonas aeruginosa*, sendo registradas zonas de inibição de mais de 13 mm de diâmetro. Rota *et al.* (2008) constataram halos de inibição maiores que 20 mm contra os microrganismos testados e avaliaram o OE de *Thymus vulgaris* como muito eficaz. Conforme

os estudos de Gnat e colaboradores (2017), o óleo essencial e o extrato de tomilho foram responsáveis por desenvolver uma maior sensibilidade contra cepas de *Enterococcus faecalis*.

Diferentemente dos resultados obtidos para este estudo, Galovicová e colaboradores (2021) relataram uma zona de inibição de apenas 10 mm de diâmetro quando avaliada a atividade antibacteriana do OE de *Thymus vulgaris* L. contra cepas de *Enterococcus faecalis*, classificando essa ação como fraca. Estes mesmos pesquisadores identificaram que a atividade antibacteriana do OE de tomilho foi consideravelmente forte contra outras bactérias como *Pseudomonas fluorescens* e *Serratia marcescens*, formando halos de inibição de 22 mm e 17 mm, respectivamente.

No presente trabalho verificou-se que, apesar das três concentrações dos óleos essenciais utilizadas, tanto de orégano quanto de tomilho, terem demonstrado sinergismo e inibirem o crescimento bacteriano, este aumento de teor não foi responsável por potencializar a ação antibacteriana contra a cepa de *Enterococcus faecalis*, sendo observados halos com o mesmo diâmetro para as concentrações de 3%, 4% e 5%. Em contrapartida, resultados divergentes foram relatados por Altioek D., Altioek E. e Tihminlioglu (2010) para as diferentes concentrações do óleo essencial de *Thymus vulgaris* L. sobre a cepa de *Enterococcus faecalis*. Estes autores avaliaram filmes de quitosana incorporados a diferentes concentrações do OE de tomilho para uso como curativos, e atribuíram que o aumento do teor de OE de tomilho nos filmes de quitosana potencializa ligeiramente a atividade antibacteriana.

Uma diversidade de princípios ativos de determinado óleo essencial pode ser encontrada em diferentes plantas e, conseqüentemente, em diferentes concentrações. Enquanto o óleo essencial de tomilho possui em sua composição 43% de timol e 12% de p-cimeno, o óleo essencial de orégano apresenta 40% de carvacrol e 23% de cimeno (Benchaar *et al.*, 2008). Assim sendo, o sinergismo entre óleos essenciais ou entre seus princípios ativos pode potencializar seus efeitos farmacológicos (Zhang *et al.*, 2005). Embora os *scaffolds* QOEOT 6%, QOEOT 8% e QOEOT 10% terem demonstrado atividade antibacteriana contra a cepa de *Enterococcus faecalis* testada, este estudo constatou que os efeitos farmacológicos destas drogas não foram potencializados através da associação entre os dois óleos avaliados, contrapondo os achados das pesquisas mencionadas anteriormente.

Sugere-se que a variação na eficácia da atividade antibacteriana entre os estudos pode estar relacionada com a composição química dos óleos essenciais e do biopolímero avaliado, estabilidade da própria quitosana testada, cinética de liberação controlada dos óleos essenciais pelos *scaffolds*, presença de interações entre os componentes ativos destas drogas, características lipofílicas das substâncias e suas dispersões no meio de cultura, assim como

pode estar relacionada com a variação do potencial antibacteriano em função da linhagem bacteriana avaliada (Resende *et al.*, 2022; Tariq *et al.*, 2019).

ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO DE *SCAFFOLDS* COM E SEM A INCORPORAÇÃO AOS ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA *Escherichia coli*

A partir dos bioensaios de difusão em Ágar Muller Hinton pelo método do poço, verificou-se que tanto o biopolímero puro (grupo controle) quanto o biopolímero incorporado às drogas vegetais testadas contra a cepa CCCD-E003 inibiram seu crescimento, com formação de halos inibitórios de até 16 mm de diâmetro ao redor dos poços onde foram depositados os discos de *scaffolds*. Dessa forma, todos os *scaffolds* de quitosana avaliados, com e sem a associação às drogas vegetais, apresentaram efeito antibacteriano contra a cepa de *Escherichia coli*. A Tabela 2 ilustra as medidas dos halos típicos de inibição do crescimento bacteriano produzidos pela ação dos *scaffolds* de quitosana pura, quitosana com OE de orégano ou tomilho a 3%, 4% e 5%, e *scaffolds* de quitosana com OE de orégano e tomilho a 6%, 8% e 10%.

Tabela 2. Avaliação da atividade antibacteriana de *scaffolds* à base de quitosana incorporados aos óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. contra *Escherichia coli*.

| <i>Scaffolds</i> de quitosana com e sem a incorporação dos óleos essenciais de <i>Origanum vulgare</i> L. e <i>Thymus vulgaris</i> L. | Diâmetro do halo de inibição contra <i>Escherichia coli</i> CCCD-E003 |
|---|---|
| Quitosana (controle) | 16 mm |
| QOEO 3% | 16 mm |
| QOEO 4% | 16 mm |
| QOEO 5% | 16 mm |
| QOET 3% | 16 mm |
| QOET 4% | 16 mm |
| QOET 5% | 16 mm |
| QOEOT 6% | 16 mm |
| QOEOT 8% | 16 mm |
| QOEOT 10% | 16 mm |

Legenda: QOEO: Quitosana incorporada ao óleo essencial de *Origanum vulgare* L. QOET: Quitosana incorporada ao óleo essencial de *Thymus vulgaris* L. QOEOT: Quitosana incorporada aos óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L.

Fonte: Acervo do autor (2023).

Para o teste de difusão em ágar por poço foram considerados com atividade inibitória os halos com diâmetro ≥ 6 mm (Bona *et al.*, 2014). Dessa maneira, verificou-se que todos os *scaffolds* à base de quitosana, com e sem a incorporação às drogas vegetais, foram capazes de demonstrar efeito antibacteriano contra a cepa de *Escherichia coli* avaliada neste estudo.

No presente trabalho foi possível observar atividade inibitória para o *scaffold* de quitosana pura (grupo controle) contra a cepa de *Escherichia coli* (CCCD-E003) através da difusão em ágar pelo método do poço. Em concordância com este resultado, estudos disponíveis na literatura comprovam que os biomateriais contendo quitosana sem a adição de óleos essenciais apresentam potencial antimicrobiano frente a algumas cepas, entre elas *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, dentre outras (Amalraj *et al.*, 2020; Râpă *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2019; Sobczyk *et al.*, 2021).

Em relação aos *scaffolds* incorporados às drogas vegetais, verificou-se que os *scaffolds* QOEO a 3%, 4% e 5%, QOET a 3%, 4% e 5%, e QOET a 6%, 8% e 10% foram capazes de inibir a cepa bacteriana estudada e apresentaram considerável atividade antibacteriana, formando halos de até 16 mm. De modo semelhante, Busatta *et al.* (2007) estudaram a atividade antibacteriana do OEO, através do método de difusão em disco, contra várias bactérias patogênicas como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella choleraesuis*. Estes pesquisadores relataram em seu estudo a formação de halos de inibição de 16 mm, 17 mm e 29 mm para estas cepas, respectivamente. Rota *et al.* (2008) também obtiveram resultados similares ao do presente estudo, uma vez que encontraram forte atividade antibacteriana do OET contra cepas de *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Salmonella Enteritidis* e *Staphylococcus aureus*.

Embora a associação da quitosana com os OEs de orégano e/ou tomilho não tenha resultado em halos de inibição com diâmetros maiores que o halo formado pelo grupo controle, tornou-se notório que a atividade antibacteriana esteve presente em todos os *scaffolds* avaliados. Por outro lado, Koosehbol *et al.* (2017) notaram em sua pesquisa, a partir de filmes de quitosana com PEGF e timol, que quanto maior for a concentração de timol, maior será a atividade antibacteriana. Para estes pesquisadores, esta relação de proporção está diretamente condizente com a liberação lenta de algumas quantidades de timol que estão fisicamente presas entre cadeias reticuladas de quitosana.

Apesar da ação antibacteriana do OEO ter sido relatada neste trabalho, não houve um aumento do efeito inibitório entre as concentrações de 3%, 4% e 5% desta substância, permanecendo ambas as concentrações com a mesma eficácia inibitória, o que contradiz os autores mencionados acima. Todas as concentrações avaliadas da droga vegetal demonstraram

a mesma eficácia inibitória, com ausência de variação entre os tamanhos dos halos de inibição, ou seja, o aumento no teor do OE não potencializou o efeito antibacteriano contra a cepa estudada.

Nesta pesquisa foi comprovada a ação antibacteriana contra a cepa CCCD-E003 para ambas as drogas vegetais avaliadas em suas menores concentrações. Em semelhança a estes resultados, Reis *et al.* (2020) comprovaram que o OEO foi capaz de desenvolver ação antibacteriana contra *E. coli* em concentrações menores ou iguais a do presente trabalho, como 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5% e 3%. Todavia, para Sobczyk *et al.* (2021) bactérias Gram-negativas, a exemplo da *Escherichia coli*, possuem maior resistência em comparação a bactérias Gram-positivas e podem exigir maiores concentrações de drogas com propriedades antimicrobianas para promoverem inibição em seu crescimento.

Em contrapartida ao presente estudo, Millezi *et al.* (2012) não evidenciaram atividade antibacteriana do OET sobre *E. coli*. Sobczyk *et al.* (2021) observaram a ausência de atividade antibacteriana do OET contra *E. coli* em concentrações inferiores a 4%, sendo este OE eficaz em concentrações $\geq 4\%$. Por outro lado, Pereira *et al.* (2014) avaliaram a atividade antibacteriana e a curva de morte termoquímica de soluções desinfetantes de óleos essenciais sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella Enteritidis*. Estes pesquisadores concluíram que o OE com maior atividade bactericida sobre todas as cepas foi o de tomilho, com CIM de 0,25% e a *Escherichia coli* se mostrou a bactéria mais sensível aos OEs testados.

É importante ressaltar ainda que, para Ernandes e Garcia-Cruz (2007) as bactérias Gram-positivas demonstram-se mais sensíveis à atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, com 44,2% de frequência de halos formados em relação às Gram-negativas (36,7%). Não obstante, na presente pesquisa foi possível observar, comparando-se os efeitos inibitórios evidenciados, que as drogas com propriedades farmacológicas testadas promoveram atividade inibitória com eficácia semelhante tanto para bactérias Gram-positivas (*E. faecalis*) quanto para bactérias Gram-negativas (*E. coli*).

Tornou-se possível evidenciar neste trabalho a formação de halos de inibição com maiores diâmetros contra a cepa de *E. coli*, assim como no estudo de Deineka *et al.* (2021), que comprovaram uma maior eficácia na formulação de quitosana aerogel contra bactérias Gram-negativas em relação a bactérias Gram-positivas. Entretanto, foi constatada ação antibacteriana em todos os *scaffolds* de quitosana pura e quitosana incorporada aos OEs de orégano e tomilho, tanto nos testes contra a cepa Gram-positiva quanto nos testes contra a cepa Gram-negativa.

CONCLUSÃO

A associação entre *scaffolds* de quitosana com os OEs de orégano e tomilho apresentou ação antibacteriana, sendo considerada eficaz na inibição de cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*, apresentando-se como opção terapêutica para as infecções orais causadas por estes patógenos. No entanto, mais estudos *in vitro*, com a realização de ensaios de liberação controlada, são necessários para enfatizar a eficácia destes dispositivos contra diferentes tipos de microrganismos, bem como posteriores estudos *in vivo*, tendo por finalidade observar o comportamento dos mesmos no organismo.

REFERÊNCIAS

ALJAAFARI, M. N. *et al.* An overview of the potential therapeutic applications of essential oils. **Molecules**, v. 26, n.3, p. 628, 2021.

ALTIOK, D.; ALTIOK, E.; TIHMINLIOGLU, F. Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing applications. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 21, p. 2227–2236, 2010.

AMALRAJ, A. *et al.* Preparation, characterization and antimicrobial activity of polyvinyl alcohol/gum arabic/chitosan composite films incorporated with black pepper essential oil and ginger essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 151, p. 366-375, 2020.

ATASHGAHI, M. *et al.* Epinephrine-Entrapped Chitosan Nanoparticles Covered by Gelatin Nanofibers: A Bi-layer Nano-Biomaterial for Rapid Hemostasis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 5, n. 3, p. 264, 2021.

BENCHAAR, C. *et al.* A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1, p. 209-228, 2008.

BLANCO, M. A. **Avaliação da incorporação de nanopartículas de quitosana ao cimento endodôntico AH PLUS**. 2011. 66 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

BONA, E. A. M. *et al.* Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, p. 218-225, 2014.

- BORA, L. *et al.* An up-to-date review regarding cutaneous benefits of *Origanum vulgare* L. essential oil. **Antibiotics**, v. 11, n. 5, p. 549, 2022.
- BORUGA, O. *et al.* Thymus vulgaris Essential Oil: Chemical Composition and Antimicrobial Activity. **Journal of Medicine and Life**, v. 7, p. 56–60, 2014.
- BRIXNER, B. *et al.* Atividade antimicrobiana da quitosana associada a óleos essenciais na aplicação biomédica: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, e447111436563, 2022.
- BUSATTA, C. *et al.* Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 4, p. 610-616, 2007.
- ČABARKAPA, I. *et al.* Anti-biofilm activities of essential oils rich in carvacrol and thymol against *Salmonella Enteritidis*. **Biofouling**, v. 35, n. 3, p. 361-375, 2019.
- CRUZ, J. B. *et al.* Síntese e caracterização de arcabouços de quitosana com agente antineoplásicos. **Revista Matéria**, v.21, n.1, pp. 129-140, 2016.
- DEINEKA, V. *et al.* Hemostatic performance and biocompatibility of chitosan-based agents in experimental parenchymal bleeding. **Materials Science and Engineering**, v. 120, p. 111740, 2021.
- EL-TARABILY, K. A. *et al.* Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 9, p. 5145-5156, 2021.
- ERNANDES, F. M. P. G.; GARCIA-CRUZ, C. H. Atividade antimicrobiana de diversos óleos essenciais em microrganismos isolados do meio ambiente. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 1-14, 2007.
- GALINDO, M. V. *et al.* Atividade antimicrobiana e antioxidante de filmes comestíveis de gelatina e quitosana adicionados de óleos essenciais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, p. e019008, 2019.
- GALOVICOVÁ, L. *et al.* Thymus vulgaris Essential Oil and Its Biological Activity. **Plants**, v. 10, p. 1-17, 2021.
- GERMANO, V. E. *et al.* Microrganismos habitantes da cavidade oral e sua relação com patologias orais e sistêmicas: Revisão de literatura. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, v.16, n.2, p. 91-99, 2018.
- GHASEMI-MOBARAKEH, L. *et al.* Key terminology in biomaterials and biocompatibility. **Current Opinion In Biomedical Engineering**, v. 10, n. 2, p. 45-50, 2019.
- GNAT, S. *et al.* Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial pathogens isolated from faeces of red deer (*Cervuselaphus*). **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 20, p. 697–706, 2017.

HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochem Anal**, v.11, p. 137-47, 2000.

KOOSHEGOL, S. *et al.* Preparation and characterization of in situ chitosan/polyethylene glycol fumarate/thymol hydrogel as an effective wound dressing. **Materials Science and Engineering**, v. 79, p. 66-75, 2017.

KOSAKOWSKA, O. *et al.* Antioxidant and antibacterial activity of essential oils and hydroethanolic extracts of Greek oregano (*O. vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart) and common oregano (*O. vulgare* L. subsp. *vulgare*). **Molecules**, v. 26, n. 4, p. 988, 2021.

LIMA, F. O. *et al.* Avaliação do potencial antiaderente do óleo de lavanda contra cepa de *Escherichia coli*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, e22810817225, 2021.

LOPES, K. S. *et al.* Aplicações e possibilidades terapêuticas do uso do biomaterial quitosana para a Odontologia: revisão da literatura. **Archives of Health Investigation**, v. 9, n. 6, p. 587-591, 2020.

LORIAN, V. M. D. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Willians & Wilkins, p. 739-788, 1991.

MALACARA, K. D. P.; URENDA, M. A. O.; ARROCENA, M. C. A. Antimicrobial effectiveness of chitosan as a suture coating in oral and maxillofacial surgery: a systematic review. **Odontoestomatologia**, v. 24, p. 1-12, 2022.

MATICA, M. A. *et al.* Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 23, p. 5889, 2019.

MILLEZI, A. F. *et al.* Propriedades antimicrobianas in vitro de óleos essenciais de plantas *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* e *Laurus nobilis* contra cinco importantes patógenos veiculados por alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 1, 2012.

OLIVEIRA, R. A. G. *et al.* Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 77-82, 2006.

PEREIRA, A. A. *et al.* Inativação termoquímica de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* Enteritidis por óleos essenciais. **Ciência Rural**, v.44, n.11, p.2022-2028, 2014.

RÂPĂ, M. *et al.* Bioactive collagen hydrolysate-chitosan/essential oil electrospun nanofibers designed for medical wound dressings. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 11, p. 1939, 2021.

REIS, J. B. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of health Review**, v. 3, n. 1, p.342-363, 2020.

- RESENDE, J. A. *et al.* Potencial antimicrobiano e antibiofilme de *Eucalyptus globuluse* *Mentha piperita*L. e a associação com antimicrobianos comerciais. **Scientia Plena**, v. 18, p. 1-13, 2022.
- RICE, L.B. Enterococcal Physiology and Antimicrobial Resistance: The Streetlight Just Got a Little Brighter. **mBio – ASM Journals**, v. 12,e03511–e03520, 2021.
- RODRIGUES, A. C. *et al.* Botanical, phytochemical and antimicrobial aspects of *Thymus vulgaris* (Lamiaceae): a brief review of literature. **Diversitas Journal**, Santana do Ipanema/AL, v. 7, n. 4, p. 2605-2614, 2022.
- ROSATO, A. *et al.* Anti-biofilm inhibitory synergistic effects of combinations of essential oils and antibiotics. **Antibiotics**, v. 9, n. 10, p. 620-637, 2020.
- ROTA, M.C. *et al.* Antimicrobial Activity and Chemical Composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* Essential Oils. **Food Control**, v. 19, p. 681–687, 2008.
- SANTOS, E. P. *et al.* Chitosan/essential oils formulations for potential use as wound dressing: physical and antimicrobial properties. **Materials**, v. 12, n. 14, p. 2223, 2019.
- SEOW, Y. X. *et al.* Plant essential oils as active antimicrobial agents. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, n. 5, p. 625-644, 2014.
- SHARMA, A. *et al.* An Overview of Phytotherapy Used in the Management of Type II Diabetes. **Current Diabetes Reviews**, v. 17, p. 1-18, 2021.
- SILVA, E. F.; VIEIRA, T. J. N.; GURGEL, G. C. D. L. Atividade biológica“in vitro”do fitoconstituente timol sobre espécies do gênero *Candida*. **Revista de Pesquisa Interdisciplinar**, v. 2, p. 677–685, 2017.
- SILVA, S. L. **Comparação do potencial antibacteriano dos óleos essenciais de orégano e tomilho contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* e incorporação em membranas de quitosana para o tratamento de lesões por pressão.** 2023. 116 f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2023.
- SILVA, S. L. *et al.* Evaluation of the antimicrobial effect of the *Origanum vulgare* L essential oil on strains of *Klebsiella pneumoniae*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. 1-10, 2023.
- SOBCZYK, A. E. *et al.* Influence of replacing oregano essential oil by ground oregano leaves on chitosan/alginate-based dressings properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 181, p. 51-59, 2021.
- SOOLARI, A.; SOOLARI, A.; FIELDING, C. Inflamed Odontogenic Cyst with *Actinomyces* Colonization: Management of an Atypical Case in a 16-Year-Old Patient. **The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry**, v. 40, n. 2, p. 35–41, 2020.
- TAN, C. A. Z. *et al.* *Enterococcus faecalis* Antagonizes *Pseudomonas aeruginosa* Growth in Mixed-Species Interactions. **Journal of Bacteriology**, v. 204, n. 7, p. 1-18, 2022.

TARIQ, S. *et al.* A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 6, p. 1-16, 2019.

ZHANG, K. Y. *et al.* Evaluation of microencapsulated essential oils and organic acids in diets for broiler chickens. **International Journal of Poultry Science**, v. 9, n. 4, p. 612-619, 2005.

ZHANG, M. X. *et al.* Effects of chitosan-collagen dressing on wound healing in vitro and in vivo assays. **Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials**, v. 19, p. 1-19, 2021.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O emprego da fitoterapia em associação ao uso de biomateriais, como a quitosana, apresenta-se como uma alternativa viável para o tratamento e prevenção de infecções no corpo humano. Os óleos essenciais, extraídos de plantas medicinais, bem como os biopolímeros biocompatíveis com os tecidos orgânicos apresentam forte atividade farmacológica. Os *scaffolds* à base de quitosana incorporados aos OEs de *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L. apresentam ação antibacteriana e são considerados inibidores eficazes para cepas de *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli*, caracterizando-se como opções terapêuticas para as infecções orais causadas por estes patógenos. No entanto, novos estudos *in vitro*, que abordem ensaios de liberação controlada, são necessários para enfatizar a eficácia destes dispositivos frente a diferentes tipos de microrganismos. Ademais, faz-se necessário a realização de estudos *in vivo*, tendo por finalidade analisar o comportamento destes *scaffolds* no organismo.

ANEXO 1

Diretrizes para Autores

A Revista Interdisciplinar em Saúde/RIS da FSM-PB, ISSN: 2358-7490, constitui-se em um espaço atrativo, interessante, motivacional e didático para toda a comunidade universitária - pesquisadores, professores, docentes-assistenciais, preceptores acadêmicos e trabalhadores da saúde - e em incentivo para a construção de uma produção científica que, apesar de abranger conhecimentos diferentes, servirá coletivamente para a edificação de um produto científico fundamentado na ética e nos princípios da interdisciplinaridade.

Composta de Editoria e Conselho Consultivo, a RIS/FSM-PB intenciona desenvolver uma proposta qualificada e inovadora, com zelo pelo cumprimento das normas de publicação, periodicidade e atenção respeitosa aos seus colaboradores.

Por fim, entendendo a interdisciplinaridade como uma ferramenta que busca trabalhar o conhecimento por meio da reintegração de procedimentos acadêmicos, que ficaram isolados uns dos outros pelo método disciplinar, a RIS propõe-se a produzir prazerosamente textos que sensibilizem, estimulem e conscientizem seus leitores. E mais: demonstrar a interdisciplinaridade numa visão abrangente e apropriada para intervir e transformar a realidade.

1. Os textos devem conter no mínimo 15 e no máximo 20 laudas, redação em português; Resumo [cerca de 250 a 500 palavras] em português e inglês contendo: objetivo, método, resultados e conclusão. O resumo deve acompanhar ainda de três a cinco descritores cadastrados no Descritores de Ciências da Saúde (DCS). O título do texto deve ser escrito em português e inglês, seguido do nome de seu (s) autor (es), com breve apresentação [à guisa de currículo] em notas de rodapé. Máximo de seis autores por artigos;
2. O texto deve ser escrito em fonte Times New Roman, tamanho 12 e espaçamento 1,5; Número máximo de figuras: cinco; A página deve ser configurada para impressão em papel A4, contendo margens superior e esquerda iguais a 3 cm, inferior e direita iguais a 2 cm; A paginação deve ser inserida no canto superior direito;
3. Citações e referências devem estar de acordo com as normas da ABNT;

4. No caso de pesquisas envolvendo seres humanos deve ser anexado o parecer de aprovação por um comitê de ética em pesquisa; trabalhos de revisão de literatura estão suspenso a partir de 01.08.2019;
5. Enviar dois arquivos: um contendo a identificação dos autores e outro sem. Ideias e conceitos neles contidos são de responsabilidade de seus autores;
6. Taxa de submissão R\$ 50,00 (cinquenta reais). Taxa de publicação R\$ 150,00 (cento e cinquenta reais). PIX para o depósito: E-mail: deposito@interdisciplinaremsaude.com.br em nome de Adjone de Oliveira Gomes;
7. Enviar declaração assinada por profissional habilitado confirmando a revisão do português do manuscrito;
8. Enviar os artigos para o e-mail: ris.fsm@gmail.com.