

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

PEDRO ODON ALMEIDA SILVA

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIADERENTE DO ÓLEO ESSENCIAL
DE *Origanum vulgare* CONTRA *Enterobacter cloacae***

PATOS/PB

2023

PEDRO ODON ALMEIDA SILVA

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIADERENTE DO ÓLEO ESSENCIAL
DE *Origanum vulgare* CONTRA *Enterobacter cloacae***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de 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/UFMG**

S586p

Silva, Pedro Odon Almeida

Potencial antimicrobiano e antiaderente do óleo essencial de *Origanum vulgare* contra *Enterobacter cloacae*. / Pedro Odon Almeida Silva. – Patos, 2023.

37f.

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. Odontologia. 3. Microbiologia. I. Oliveira Filho, Abrahão Alves de, *orient.* II. Título.

CDU 616.314:633.88

PEDRO ODON ALMEIDA SILVA

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIADERENTE DO ÓLEO ESSENCIAL
DE *Origanum vulgare* CONTRA *Enterobacter cloacae***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Odontologia
da Universidade Federal de Campina
Grande, como parte dos requisitos
para obtenção do título de bacharel
em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves
de Oliveira Filho

Aprovado em 14 / 09 / 2023

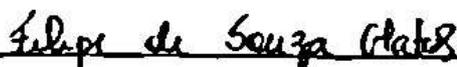
BANCA EXAMINADORA



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



**Profa. Dra. Rosana Araújo Rosendo - 1º Membro
Universidade Federal de Campina Grande - UFCG**



**Prof. Dr. Felipe de Souza Matos - 2º Membro
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado força, sabedoria, humildade, discernimento e coragem para superar as dificuldades da vida e permitiu que tudo isso fosse possível;

Aos meus pais, a minha avó e tia por todo o amor, carinho, educação, compreensão, apoio, confiança e incentivo que me foi prestado incondicionalmente durante toda minha vida e permitiram que esse sonho se tornasse realidade; a minha prima Paloma que sempre me recebe quando fico em Campina Grande nas viagens universitárias e que me confiou à função de padrinho de uma bebê linda e amorosa chamada Maria Liz;

À minha família EJC, em especial Eliana, Luiza e Eduarda, que são meu porto seguro emocional, minhas guias na vida espiritual e motivo de alegria sempre que viajo para casa; aos meus amigos carnaubenses Ayanna, Amanda, Gilvan e Ana Lívia que desde o ensino médio no IFPB fazem parte da minha vida e dividimos experiências da vida adulta, risadas, conversas, receitas, brigas e jogos sempre que possível;

Agradeço também à Turma XXI do curso de Odontologia da UFCG, por todos os momentos únicos e inesquecíveis vividos durante esses cinco anos e que, apesar da pandemia, conseguimos realizar esse sonho, em especial aos meus amigos Fernanda, Brunna, Agabio, André, Emanuel, Letícia, Laura, Vinicius, Virna, Lara, Vitória, Aryely, João Miguel e Juliana que me apoiaram nos momentos difíceis e sem vocês eu não conseguiria chegar até aqui. Foram cinco anos de muito aprendizado, risadas, estresses e experiências compartilhadas;

Ao meu brilhante orientador Prof. Abrahão pela paciência, empenho, organização e pela disponibilidade de tempo na difícil tarefa da orientação. Também por me conceder inúmeras oportunidades como participar da LAFBIM e da Iniciação Científica, por me apresentar o mundo da pesquisa e da fitoterapia, pelos conselhos acadêmicos e de vida. Obrigado por ser esse excelente professor, profissional exemplar e por acreditar no meu potencial. Sempre serei grato por tudo que o senhor fez por mim;

A toda equipe da LAFBIM, em especial Alice, Bernadete e Milena pela disponibilidade, atenção e ajuda na realização dos experimentos;

A todos os professores que fazem parte do curso de Odontologia e da Clínica Escola da UFCG, em especial os professores Felipe Matos, Rosana Rosendo e Tássia Cristina, que me apresentaram a Endodontia com muito amor, paciência e dedicação, uma especialidade linda, complexa e tão necessária, e que pretendo trilhar no meu futuro profissional. Obrigado também pela oportunidade de participar da LAENDO e por toda supervisão, dedicação, cuidado e carinho durante os atendimentos, sempre me lembrarei de vocês com muita gratidão e saudade;

Aos professores Elizandra, Gymenna, Julierme, Renata, Luana e Ana Karina por toda paciência e por todo conhecimento compartilhado. Agradeço, por fim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente na minha formação.

“Feliz aquele que transfere o que
sabe e aprende o que ensina.”

Cora Coralina

RESUMO

A *Enterobacter cloacae*, bactéria encontrada no trato gastrointestinal e cavidade oral de indivíduos saudáveis, pode representar um importante microrganismo oportunista causador de infecções hospitalares, como pneumonias aspirativas em pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva. Essa bactéria é capaz de formar biofilmes, secretar citotoxinas e apresenta resistência a vários antimicrobianos. Nesse sentido, vale salientar a crescente busca por produtos naturais com propriedades antimicrobiana, antifúngica e antiaderente, como os óleos essenciais, pois são produtos de origem vegetal, de baixo custo e fácil acesso pela população. Dentre os inúmeros óleos essenciais com propriedades farmacológicas, destaca-se o *Origanum vulgare*. Dessa forma, o objetivo dessa pesquisa foi analisar a atividade antibacteriana e antiaderente do óleo essencial de *Origanum vulgare* contra *Enterobacter cloacae*. Foram realizados ensaios metodológicos empregando as técnicas de microdiluição em caldo em placas de 96 poços para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM), e a técnica de tubos inclinados para determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA), na presença de sacarose a 5%. Constatou-se que o óleo essencial de *Origanum vulgare* apresentou uma CIM de 128 µg/mL e CBM de 256 µg/mL contra a cepa de *Enterobacter cloacae*. Já a CIMA do óleo essencial e do controle positivo (digluconato de clorexidina 0,12%) não foi encontrada nas concentrações experimentadas. Portanto, foi possível concluir que o óleo essencial de *Origanum vulgare* apresentou elevado potencial antimicrobiano e foi considerado bactericida frente à *Enterobacter cloacae* embora inexistisse atividade antiaderente nas concentrações testadas e na metodologia aplicada.

Palavras-chave: fitoterapia; microbiologia; odontologia.

ABSTRACT

Enterobacter cloacae, a bacterium found in the gastrointestinal tract and oral cavity of healthy individuals, can represent an important opportunistic microorganism that causes hospital-acquired infections, such as aspiration pneumonia in patients admitted to Intensive Care Units. This bacterium is able to form biofilms, secrete cytotoxins and is resistant to various antimicrobials. In this sense, it is worth highlighting the growing search for natural products with antimicrobial, antifungal and anti-adherent properties, such as essential oils, as they are products of plant origin, low cost and easily accessible to the population. Among the many essential oils with pharmacological properties, *Origanum vulgare* stands out. The aim of this study was to analyze the antibacterial and anti-adherent activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Enterobacter cloacae*. Methodological tests were carried out using broth microdilution techniques in 96-well plates to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC), and the inclined tube technique to determine the Minimum Inhibitory Concentration of Adherence (MICA), in the presence of 5% sucrose. The essential oil of *Origanum vulgare* was found to have an MIC of 128 µg/mL and CBM of 256 µg/mL against the *Enterobacter cloacae* strain. The MICA of the essential oil and the positive control (0.12% chlorhexidine digluconate) were not found at the concentrations tested. Therefore, it was possible to conclude that the essential oil of *Origanum vulgare* had a high antimicrobial potential and was considered bactericidal against *Enterobacter cloacae*, although there was no anti-adherent activity at the concentrations tested and in the methodology applied.

Keywords: phytotherapy; microbiology; dentistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Ilustração das formas de vida bacteriana.....	16
Figura 2. Foto de um paciente fazendo uso de ventilação mecânica.....	18
Figura 3. Imagem da planta e folhas trituradas do orégano.....	21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL do óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i> contra <i>Enterobacter cloacae</i>	26
Tabela 2. Concentração Bactericida Mínima (CBM) em µg/mL do óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i> contra <i>Enterobacter cloacae</i>	27
Tabela 3. Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i> e digluconato de clorexidina 0,12% contra a cepa ECL 41 de <i>Enterobacter cloacae</i>	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMH	Ágar Mueller Hinton
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CIMA	Concentração Inibitória Mínima de Aderência
CGEN	Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
DMSO	Dimetilsulfóxido
IRAS	Infecção Relacionada à Assistência a Saúde
µg	Micrograma
µg/mL	Micrograma por mililitro
µL	Microlitro
mL	Mililitro
p/v	Peso por volume
SIGMA	Solução de resazurina sódica
UTI's	Unidades de Terapia Intensiva
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
v/v	Volume de soluto/volume de solução

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	15
2.1 GERAL	15
2.2 ESPECÍFICOS	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 BIOFILMES	16
3.2 <i>Enterobacter cloacae</i> E PNEUMONIAS NOSOCOMIAIS	17
3.3 FITOTERAPIA.....	19
3.4 <i>Origanum vulgare</i>	20
4. METODOLOGIA.....	23
4.1 LOCAL DE ESTUDO.....	23
4.2 SUBSTÂNCIAS-TESTE	23
4.3 ESPÉCIES BACTERIANAS E MEIO DE CULTURA	23
4.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)	23
4.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM).....	24
4.6 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DE ADERÊNCIA (CIMA)	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
6. CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

O corpo humano é naturalmente colonizado por diferentes espécies de microrganismos que estabelecem uma relação de simbiose com os mecanismos de defesa do hospedeiro. Alterações na composição e no tamanho das populações microbianas associados à deficiência dos fatores de resistência do indivíduo podem desencadear uma quebra dessa homeostasia e favorecer o surgimento de patologias (Germano *et al.*, 2018).

A cavidade oral abriga uma parte importante da microbiota humana e inclui de centenas a milhares de espécies microbianas diversas. Muitos desses microrganismos são tidos como oportunistas, sendo responsáveis por doenças bucais como cárie, gengivite e periodontite, e se organizam na forma de biofilmes sob qualquer superfície não descamativa da cavidade oral. Quando o ecossistema sensível se desequilibra, seja por sobrecarga ou sistema imunológico fraco, há um comprometimento da saúde local ou sistêmica (Arweiler e Netuschil, 2016).

Sob essa óptica, Cabral (2016) afirma que a *Enterobacter cloacae*, bactéria frequentemente encontrada na microbiota endógena intestinal de indivíduos saudáveis, pode representar um importante microrganismo oportunista causador de infecções relacionadas à assistência à saúde, como pneumonias nosocomiais em pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI's).

Esse microrganismo apresenta-se como um bacilo gram-negativo, anaeróbio facultativo, mesófilo, catalase positivo, móvel, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, não formadora de esporos e resistente a antimicrobianos. Sua capacidade de formar biofilmes e secretar várias citotoxinas (enterotoxinas, hemolisinas, toxinas formadoras de poros) é importante para sua patogenicidade (Mezzatesta *et al.*, 2012).

Quando a desorganização do biofilme não é realizada, esse patógeno, que pode estar presente em superfícies dentárias, próteses, mucosas da cavidade oral e tubos orotraqueais de paciente intubados, pode ser aspirado ou passar para a corrente sanguínea por meio de doenças no periodonto, de modo a iniciar um quadro pneumático infeccioso (Silva, 2013).

Nessa perspectiva, o imunocomprometimento de indivíduos hospitalizados associado à presença natural da *Enterobacter cloacae* é responsável por uma parcela significativa dessas infecções adquiridas em hospitais, de modo a contribuir com o aumento dos índices de complicações relacionadas à saúde. Diante disso, essa condição configura-se como uma das principais causas de morbimortalidade, o que pode estar relacionado à resistência intrínseca da *Enterobacter cloacae* à ampicilina, amoxicilina, cefalosporinas de primeira geração e cefoxitina devido à produção de AmpC β -lactamase constitutiva (Potron *et al.*, 2013).

Tal resistência limita as opções terapêuticas, prolongando o tempo de tratamento dessas infecções e aumentando, dessa forma, os custos por parte do sistema de saúde, além de aumentar as altas taxas de mortalidade, configurando então um problema de saúde pública.

Tendo em vista o desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos atuais, à elevada capacidade de aderência e formação de biofilmes da *Enterobacter cloacae*, substâncias naturais de baixo custo e com potencial antimicrobiano e antiaderente podem desempenhar papel importante na resolução das infecções associadas a este microrganismo (Moura, 2012).

Dessa forma, novas alternativas têm sido investigadas para combater esse patógeno e a fitoterapia se torna um campo de amplas possibilidades para sanar essa problemática (Lima, 2011). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 80% da população mundial utilizam a medicina alternativa, destacando-se os medicamentos fitoterápicos, para suprir a ausência de atendimento médico primário, principalmente em países da África (Oliveira *et al.*, 2011).

Segundo Lôbo *et al.* (2010), os medicamentos fitoterápicos, obtidos a partir da matéria prima vegetal, têm sido amplamente empregados no tratamento de diversas enfermidades humanas, podendo ser encontrados nas formas sólida e líquida.

Dentre os extratos líquidos vegetais estão os óleos essenciais, que são compostos derivados do metabolismo secundário das plantas e ricos em terpenos (componentes majoritários desses óleos) e que possuem diversas propriedades farmacológicas, tais como ação antibacteriana e antiaderente (Cansian *et al.*, 2010).

Nesse contexto, o *Origanum vulgare* (orégano) tem sido reconhecido como uma espécie vegetal que possui várias propriedades terapêuticas, de modo que atualmente seu potencial antimicrobiano vem recebendo um grande interesse científico no campo da fitoterapia (Kubiça, 2012).

Segundo Cordeiro *et al.* (2019), o óleo essencial de orégano apresentou atividade antimicrobiana contra cepas de *E. coli* e *S. aureus*. Isso se deve pelo fato do óleo essencial de orégano possuir em suas composições constituintes o carvacrol e timol em maiores concentrações, que geram ação antibacteriana sobre esses microrganismos patogênicos.

Já Sartorato *et al.* (2004) mostram que o óleo essencial de *Origanum vulgare* apresentou forte atividade antibacteriana contra cepas de *E. faecium* e atividade moderada contra *S. choleraesuis*, *S. aureus* e *B. subtilis*. Logo, evidencia-se que o óleo essencial de orégano apresenta atividade antimicrobiana cientificamente comprovada, sendo objeto de estudo em várias partes do mundo.

Mediante a importância do combate às infecções causadas pelas bactérias multirresistentes e às informações acerca do potencial terapêutico dos medicamentos fitoterápicos, este trabalho inovador visa avaliar a possível atividade antibacteriana e antiaderente do óleo essencial de *Origanum vulgare* contra cepa de *Enterobacter cloacae*, e, por conseguinte, desenvolver uma nova tecnologia que consistirá em um produto natural com atividade antiaderente para combater o aumento da resistência desta bactéria, e assim evitar agravos a pacientes hospitalizados.

2. OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana e antiaderente do óleo essencial do *Origanum vulgare* contra *Enterobacter cloacae*.

2.2 ESPECÍFICOS

- Analisar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial de *Origanum vulgare* contra *Enterobacter cloacae*;
- Determinar a Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de *Origanum vulgare* contra *Enterobacter cloacae*;
- Avaliar a Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do óleo essencial de *Origanum vulgare* contra *Enterobacter cloacae*;
- Comparar a potência antiaderente do óleo essencial do *Origanum vulgare* com o digluconato de clorexidina 0,12%;
- Discutir os resultados obtidos com outros já publicados na literatura científica.

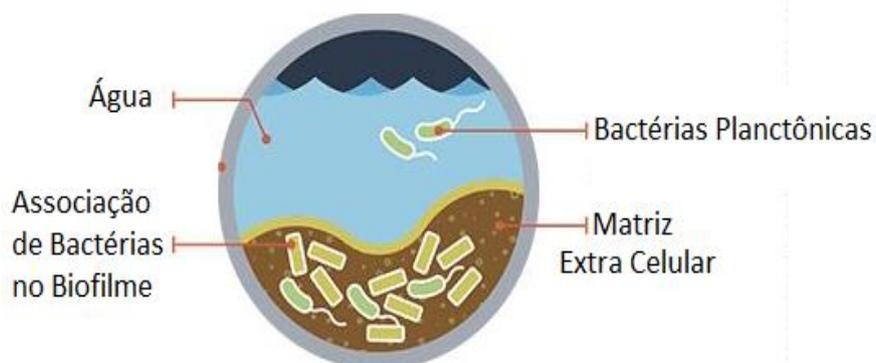
3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 BIOFILMES

A cavidade oral é naturalmente colonizada por centenas a milhares de espécies microbianas, que habitam em simbiose com os mecanismos de defesa do hospedeiro. Entretanto, muitos desses microrganismos são oportunistas e, quando há uma quebra dessa relação de simbiose, seja por sobrecarga ou sistema imunológico fraco, ocorre a instalação de doenças. Esses seres microbianos podem estar dispostos de forma livre em suspensão (forma planctônica) ou formar comunidades complexas denominadas biofilmes (Arweiler e Netuschil, 2016).

Os biofilmes ocorrem naturalmente nos mais variados tipos de ambientes, sejam eles bióticos ou abióticos. A opção por sua constituição está no fato de que estes, por meio da formulação de micro-habitats, oferecem proteção aos indivíduos que dele fazem parte contra estresses do meio ambiente, constituindo uma barreira física e protegendo-os contra a luz ultravioleta (UV), estresse osmótico, calor, inanição, detergentes ácidos, antibióticos, fagócitos, anticorpos e bacteriófagos. Esta comunidade bacteriana, envolta em uma matriz de polissacarídeos extracelulares de produção própria, constitui um modo protegido de crescimento que permite a sobrevivência em ambientes hostis (Vale, 2015).

Figura 1. Ilustração das formas de vida bacteriana.



Fonte: microambiental, 2023.

Na cavidade oral, quando não desorganizado, o biofilme dental maduro pode ocasionar várias doenças bucais como a cárie e a gengivite. Esta última decorre da ativação de cascatas inflamatórias no periodonto de proteção, a

qual pode progredir para um acometimento mais grave, como a periodontite. Alguns desses microrganismos podem alcançar a corrente sanguínea, através da própria escovação dental, graças à rica vascularização dos tecidos periodontais, ocasionando uma bacteremia transitória sistêmica (Pinheiro e Almeida, 2014).

3.2 *Enterobacter cloacae* E PNEUMONIAS NOSOCOMIAIS

Dentre as várias bactérias que habitam nossa microbiota oral endógena está a *Enterobacter cloacae*. Uma bactéria pertencente à família *Enterobacteriaceae*, caracterizada como um bacilo, gram-negativo, anaeróbio facultativo, mesófilo, catalase positivo, móvel, não formadora de esporos e resistente a antimicrobianos. Sua capacidade de formar biofilmes e secretar citotoxinas é importante para sua patogenicidade e representa um microrganismo oportunista causador de várias enfermidades (Mezzatesta *et al.*, 2012).

Nesse sentido, a presença natural da *Enterobacter cloacae* na microbiota oral endógena, associada a sua capacidade de formar biofilmes, tornam esse patógeno oportunista, podendo ser aspirado ou disseminado para a corrente sanguínea por meio de doenças no periodonto e, assim, desencadear um processo infeccioso sistêmico (Ferreira *et al.*, 2017).

Segundo Rosa (2015), nas últimas três décadas, a *Enterobacter cloacae* vem sendo reportada como importante patógeno de infecção relacionada à assistência a saúde (IRAS) como endocardite infecciosa, osteomielites, infecções do trato urinário, artrite séptica, infecções da pele e tecidos moles e pneumonias nosocomiais.

De acordo com Oliveira *et al.* (2007), a pneumonia nosocomial é uma infecção hospitalar desenvolvida após 48h de internação e que não estava presente ou incubada no paciente no momento da admissão no hospital, sendo responsável pelo aumento no tempo de internação e acréscimo dos custos com assistência médica. Dentre todas as infecções adquiridas em hospital, a pneumonia nosocomial é responsável por 10% a 15% deste total e 20% a 50% de todos os pacientes afetados por essa infecção falecem.

Ainda de acordo com os autores, a *Enterobacter cloacae* foi identificada como um dos microrganismos presentes no biofilme formado nos tubos de respiração endotraqueal de pacientes entubados em UTI's (Unidades de Terapia Intensiva), representando dessa forma um importante agente etiológico no desenvolvimento dessa condição.

Figura 2. Foto de um paciente fazendo uso de ventilação mecânica.



Fonte: Interfisio.com, 2023.

As bactérias mais frequentemente encontradas no aspirado traqueal dos pacientes intubados foram *S. pneumoniae* (23,3%), *P. aeruginosa* (20%), *S. aureus* (13,3%), *Kleibsellla pneumoniae* (13,3%), *Candida albicans* (6,6%), *Streptococcus α -hemolítico* (6,6%), *Staphylococcus sp.* (6,6%), *Enterobacter cloacae* (3,3%) e *Eschericia coli* (3,3%). Nesses pacientes, 70% destas bactérias foram encontradas no biofilme dental, 63,33% em amostras da língua, 73,33% nas amostras do tubo do respirador artificial e em 43,33% em todas as áreas simultaneamente (Oliveira *et al.*, 2007).

Além disso, estudos mostram que esse patógeno vem cada vez mais apresentando resistência aos antibióticos atuais. Os estudos de Potron *et al.* (2013) identificaram uma cepa da *Enterobacter cloacae* como sendo resistente à ampicilina, amoxicilina, cefalosporinas de primeira geração e cefoxitina devido à produção de AmpC β -lactamase constitutiva.

Beraldo e Andrade (2008) afirmam que vários aspectos comprometem a higienização da cavidade bucal e favorecem ainda mais o crescimento microbiano nesses pacientes, como a dificuldade e/ou impossibilidade do autocuidado, a presença do tubo traqueal, que dificulta o acesso à cavidade

bucal, e a conseqüente formação de biofilme, ficando à cargo da equipe hospitalar realizar a higienização da cavidade oral desses pacientes.

É consagrado na literatura que o digluconato de clorexidina, substância tida como padrão ouro na odontologia, atua na redução e formação de biofilme com um amplo espectro antimicrobiano, apresentando boa atividade contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, tais como a *Enterobacter cloacae*, além de fungos diversos. Essa substância está disponível nas concentrações de 0,12%, como antisséptico bucal, e 2% como degermante. No entanto, efeitos adversos do uso crônico dessa substância, como pigmentação dos dentes, sabor desagradável, vermelhidão e descamação oral, são fatores que limitam o seu uso (Trindade *et al.*, 2015).

Nesse contexto de microrganismos cada vez mais resistentes aos antibióticos disponíveis no mercado atual, evidencia-se a importância da busca por novos fármacos de origem natural, com menos efeitos adversos, baixo custo e de fácil acesso por parte da população.

3.3 FITOTERAPIA

A fitoterapia apresenta-se como uma importante ferramenta com amplas possibilidades de pesquisa. É estimado que 25% a 30% de todos os medicamentos considerados agentes terapêuticos derivam de produtos naturais (Clatworthy *et al.*, 2007).

O termo fitoterapia foi dado à terapêutica que utiliza os medicamentos cujos constituintes ativos são plantas ou derivados vegetais, e que tem a sua origem no conhecimento e no uso popular. As plantas utilizadas para esse fim são tradicionalmente denominadas medicinais (De Pasquale, 1984).

No Brasil, cerca de 82% da população brasileira utiliza produtos à base de plantas medicinais nos seus cuidados com a saúde, seja pelo conhecimento tradicional na medicina indígena, quilombola, entre outros povos e comunidades tradicionais, seja pelo uso na medicina popular, de transmissão oral entre gerações, ou nos sistemas oficiais de saúde, como prática de cunho científico, orientada pelos princípios e diretrizes do Sistema Único de Saúde (SUS) (Rodrigues e Simoni, 2010).

Na odontologia, o estudo de fitoterápicos para o controle do biofilme é crescente, seja para obtenção de compostos bactericidas e/ou bacteriostáticos, seja para substâncias que dificultem a adesão bacteriana (Rasko e Sperandio, 2010).

Dentre as inúmeras pesquisas com produtos naturais para a obtenção de medicamentos, um grupo que vem se destacando são os óleos essenciais, compostos derivados do metabolismo secundário de plantas e usados na prevenção e tratamento de diversas doenças, tendo em vista suas propriedades farmacológicas documentadas, tais como antimicrobiana, antifúngica, antiviral, antitumoral, espasmolítica, anticarcinogênica e antiaderente (Cansian *et al.*, 2010).

Estes compostos são constituídos, geralmente, por hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos, lactonas, cumarinas e entre outras. Embora todos os órgãos de uma planta possam acumular óleo essencial, sua composição pode variar segundo a localização (desde as flores, até botões, folhas, ramos, casca, semente, frutas e raízes). Os gêneros capazes de elaborar os constituintes que compõem os óleos essenciais estão divididos em várias famílias como *Myrtaceae*, *Lauraceae*, *Rutaceae*, *Lamiaceae*, *Apiaceae* e entre outras (Sarto e Junior, 2014).

Segundo os mesmos autores, as propriedades terapêuticas e organolépticas dos óleos essenciais, em geral, se devem à presença de monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, compostos voláteis relacionados às propriedades farmacológicas e biológicas.

3.4 *Origanum vulgare*

O *Origanum vulgare* (orégano) é uma erva perene e aromática da família *Lamiaceae*, que é nativa do Mediterrâneo e é usada principalmente como tempero na culinária ocidental. Na medicina tradicional, as partes mais comumente utilizadas são suas folhas e flores, em infusões, compressas ou submetidas à decocção, atuando como tônico estimulante ou desinfetante, usadas no tratamento de tosse, dor de dente, dor de ouvido, dor de cabeça, febre e doenças de pele (Peter, 2004).

O óleo essencial extraído desta planta apresenta alta estabilidade e diversidade de componentes químicos, principalmente o carvacrol e o timol, com atividade antimicrobiana comprovada. Além disso, apresenta atividade antifúngica, antioxidante, anti-inflamatória, analgésica, antiespasmódica, antisséptica e vasoconstritora. Nesse prisma, experimentos revelaram que seu óleo essencial foi capaz de inibir o crescimento de cepas de *Streptococcus faecium* em valores próximos aos encontrados em antibióticos disponíveis no mercado, reforçando a importância dos óleos essenciais como produtos inovadores (Rehder *et al.*, 2004; Cleff *et al.*, 2008).

Figura 3. Imagem da planta e folhas trituradas do orégano.



Fonte: Empório bom prato, 2023.

Vários estudos cientificamente comprovados demonstraram que o óleo essencial de orégano apresentou excelentes atividades antimicrobianas. Cordeiro *et al.* (2019) comprovaram efetiva ação antimicrobiana contra cepas de *E. coli* e *S. aureus*. Já Sartorato *et al.* (2004) mostraram que o óleo apresentou forte atividade antibacteriana contra *E. faecium* e atividade moderada contra *S. choleraesuis*, *S. aureus* e *B. subtilis*. Por fim, os estudos de Silva *et al.* (2010), concluíram que a cepa de *Salmonella enteritidis* teve seu crescimento inibido pelo óleo essencial de orégano.

Portanto, tendo em vista as excelentes propriedades farmacológicas dos óleos essenciais, e em especial do óleo essencial de orégano, aliado a crescente resistência microbiana e a elevada capacidade de aderência desses microrganismos é relevante a realização de pesquisas que investiguem a atividade antimicrobiana e antiaderente do óleo essencial de *Origanum vulgare*,

principalmente contra microrganismos colonizadores da cavidade bucal como a *Enterobacter cloacae*, tendo em vista que a boca é a porta de entrada para muitas infecções oportunistas de repercussão sistêmica e que esse patógeno apresenta-se com alto potencial de virulência, bem como resistência à terapia antibiótica convencional.

4. METODOLOGIA

O projeto seguiu as normas do CGEN – Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, cadastrado na plataforma SISGEN sob número de protocolo A333035.

4.1 LOCAL DE ESTUDO

Os ensaios laboratoriais foram realizados no Laboratório de Bioquímica e no laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), campus de Patos. Todos os experimentos foram realizados em condições assépticas e seguiram as normas de biossegurança do laboratório.

4.2 SUBSTÂNCIAS-TESTE

O óleo essencial de *Origanum vulgare* foi adquirido da Indústria Quinari (Pinhais/PR). A substância foi solubilizada em dimetilsulfóxido (DMSO) e diluída em água destilada para a realização dos ensaios farmacológicos. A concentração utilizada de DMSO foi inferior a 0,1% v/v. Para os ensaios do controle positivo, foi utilizado o Digluconato de Clorexidina 0,12% (Periogard®, Colgate-Palmolive Company, Nova York, EUA) disponível no laboratório.

4.3 ESPÉCIES BACTERIANAS E MEIO DE CULTURA

Para a realização do presente estudo, foi utilizada a cepa clínica ECL 41 da *Enterobacter cloacae* que foi mantida em meio Ágar Mueller Hinton (AMH) a uma temperatura de 4 °C, sendo utilizado para os ensaios, repiques de 24 horas em AMH incubados a 35 °C. Ainda, 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 foi utilizado no estudo da atividade antimicrobiana (Cleeland e Squires, 1991; Hadacek e Greger, 2000).

4.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

A CIM foi determinada utilizando a técnica de microdiluição em placa contendo 96 poços com fundo em “U”. Foi adicionado 100µL de caldo Mueller Hinton duplamente concentrado e 100µL do óleo essencial de *Origanum vulgare* em cada poço da placa, nas concentrações de 1024 a 16µg/mL. A determinação da CIM foi conduzida com 10µL do inóculo previamente preparado e adicionado em cada cavidade. Foi preparado também o controle

de crescimento no penúltimo poço, contendo 200µL do caldo e a suspensão do microrganismo e no último poço o controle negativo, com apenas 200µL do caldo. Todo o ensaio foi realizado em duplicata. As placas foram incubadas a 35 °C durante 24 horas, após esse período realizou-se a primeira leitura dos resultados. Em seguida foram adicionados 20µL de solução de resazurina sódica (SIGMA), em água destilada esterilizada na concentração de 0,01 % (p/v), reconhecido como indicador colorimétrico de óxido-redução para bactérias e feito uma nova incubação a 37 °C. A leitura se procedeu visualmente pela ausência ou presença de crescimento do microrganismo pela formação de aglomerado de células (botão) e também pela observação da mudança da coloração da solução, de azul para rosa, indicando crescimento do microrganismo. A CIM foi determinada como a menor concentração do óleo essencial que inibiu o crescimento visível da cepa ECL 41 de *Enterobacter cloacae*, verificado por uma não mudança da coloração do corante indicador (Palomino *et al.*, 2002; Ostrosky *et al.*, 2008; CLSI, 2012; Bona *et al.*, 2014).

4.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM)

Para a determinação da CBM, após a leitura dos resultados da Concentração Inibitória Mínima, foram feitos inóculos (10µL) de três diluições a partir da CIM para o meio de caldo Mueller Hinton (100µL/cavidade) em placa de microdiluição esterilizada, em seguida seguiram para incubação a 37 °C por 24 horas. Após esse tempo, foi adicionado 20µL de resazurina sódica (SIGMA). Os ensaios foram incubados novamente a temperatura de 37 °C por mais 24 horas para confirmação da concentração capaz de causar a morte das espécies bacterianas, verificado por uma não mudança da coloração do corante indicador (Ncube *et al.*, 2008; Guerra *et al.*, 2012).

4.6 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DE ADERÊNCIA (CIMA)

A Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do óleo foi determinada na presença de sacarose a 5%, de acordo com Albuquerque *et al.* (2010), usando-se concentrações correspondentes aos óleos essenciais puros até a diluição 1:1024. A partir do crescimento bacteriano, a cepa de *Enterobacter cloacae* escolhida foi cultivada a 37 °C em caldo Mueller Hinton (DIFCO®, Michigan, Estados Unidos) e foram distribuídos 0,9 mL do subcultivo

em tubos de ensaio e, em seguida, adicionado 0,1 mL da solução correspondente às diluições dos óleos essenciais.

A incubação deu-se a 37 °C por 24 horas com os tubos de ensaios inclinados em 30°. A leitura foi realizada através da observação visual da aderência da bactéria às paredes do tubo, após realizar a coloração com fucsina e a agitação do mesmo. O ensaio foi realizado em duplicata. O mesmo procedimento foi realizado para o controle positivo, o Digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard®, Colgate-Palmolive Company, Nova York, EUA). Na análise de ambos os óleos, a menor concentração do agente em contato com sacarose que impediu a aderência do biofilme nas paredes do tubo de vidro foi considerada a CIMA.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos ensaios laboratoriais realizados foi possível observar que o óleo essencial de *Origanum vulgare* em estudo foi capaz de inibir o crescimento bacteriano da cepa de *Enterobacter cloacae* testada a partir de uma concentração de 128 µg/mL, sendo esta determinada como a Concentração Inibitória Mínima (CIM) para a cepa ECL 41 da *Enterobacter cloacae*, que representa a menor concentração do óleo essencial que foi capaz de inibir o crescimento microbiano da cepa em questão. Ademais, após o teste para determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM), observou-se o valor de 256 µg/mL para a cepa ECL 41 experimentada, representando a menor concentração do óleo essencial capaz de matar 100% da estirpe bacteriana em questão.

Os resultados acerca da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Origanum vulgare* para a cepa de *Enterobacter cloacae* encontram-se expressos nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL do óleo essencial de *Origanum vulgare* contra *Enterobacter cloacae*.

Concentração do óleo essencial testado	Cepa bacteriana ECL 41
1024 µg/mL	+
512 µg/mL	+
256 µg/mL	+
128 µg/mL	+
64 µg/mL	-
32 µg/mL	-

Legenda: (+) Houve inibição do crescimento bacteriano; (-) não houve inibição do crescimento bacteriano.

Fonte: Autoria Própria (2023).

Tabela 2. Concentração Bactericida Mínima (CBM) em $\mu\text{g/mL}$ do óleo essencial de *Origanum vulgare* contra *Enterobacter cloacae*.

Concentração do óleo essencial testado	Cepa bacteriana ECL 41
1024 $\mu\text{g/mL}$	+
512 $\mu\text{g/mL}$	+
256 $\mu\text{g/mL}$	+
128 $\mu\text{g/mL}$	-
64 $\mu\text{g/mL}$	-
32 $\mu\text{g/mL}$	-

Legenda: (+) houve morte bacteriana; (-) não houve morte bacteriana.

Fonte: Aatoria Própria (2023).

Conforme proposto por Sartoratto *et al.* (2004), a atividade antimicrobiana para óleos essenciais é classificada como forte quando estes apresentarem uma CIM de até 500 $\mu\text{g/mL}$, moderada para valores de CIM entre 600 a 1500 $\mu\text{g/mL}$ e fraca para CIM acima de 1500 $\mu\text{g/mL}$. Dessa forma, os resultados identificados no presente estudo mostram que a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum vulgare* exibiu uma forte inibição frente à cepa de *Enterobacter cloacae*, dado que se apresenta com o valor da CIM de 128 $\mu\text{g/mL}$.

Já de acordo com Hafidh *et al.* (2011), para uma substância ser considerada bactericida consoante a sua CBM esta deve ser igual ou duas vezes maior que a CIM. Já para ela ser considerada bacteriostática, a CBM deve ser maior que duas vezes o valor da CIM. Logo, os resultados encontrados nesta pesquisa revelam que o óleo essencial de orégano apresenta um potencial bactericida defronte a cepa testada, uma vez que o resultado encontrado para CBM foi de 256 $\mu\text{g/mL}$.

Os resultados encontrados corroboram com os estudos de Cordeiro *et al.* (2019), que mostraram que o óleo essencial de orégano apresentou forte atividade antimicrobiana contra cepas de *E. coli* e *S. aureus*. Segundo os autores, essa atividade antimicrobiana deve-se pelo fato do óleo essencial de

orégano possuir em suas composições constituintes o carvacrol e timol em maiores concentrações, que geram ação antibacteriana sobre esses microrganismos patogênicos.

Por sua vez, os estudos realizados por Santos *et al.* (2012), demonstraram que o óleo essencial extraído das folhas de *Piper malacophyllum* (C. Presl.) apresentou uma CIM acima de 1850 µg/mL (atividade antimicrobiana classificada como fraca) e CBM acima de 3700 (atividade bactericida fraca ou inexistente) frente às cepas testadas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, utilizando a mesma metodologia da CIM e CBM empregada em nossa pesquisa, destacando dessa forma os resultados promissores encontrados no óleo essencial de orégano.

Já a atividade antiaderente dos óleos essenciais é avaliada através da menor concentração da substância necessária para inibir a formação do biofilme nas paredes do tubo, esse valor é conhecido como Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA). Nesse excerto, realizados os testes da concentração inibitória mínima de aderência do óleo essencial e do mesmo experimento com a substância controle (digluconato de clorexidina 0,12%), observou-se que o óleo essencial de *Origanum vulgare* foi incapaz de inibir a formação de biofilme da *Enterobacter cloacae* nas paredes do tubo mesmo em sua maior proporção (1:1). Já a substância testada como controle positivo, o digluconato de clorexidina 0,12%, também não foi capaz de inibir a formação do biofilme nas paredes do tubo mesmo na sua proporção pura (1:1). Ambos os experimentos foram realizados em duplicata. Os resultados obtidos da CIMA encontram-se ilustrados na tabela 3.

Corroborando com os resultados encontrados, Silva *et al.* (2023) mostraram que tanto o óleo essencial de *Origanum vulgare*, quanto o digluconato de clorexidina 0,12% falharam em inibir a formação do biofilme nas paredes dos tubos frente à cepa de *Klebsiella pneumoniae* em todas as proporções testadas, utilizando a mesma metodologia empregada no nosso estudo.

Tabela 3. Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do óleo essencial de *Origanum vulgare* e Digluconato de clorexidina 0,12% contra a cepa ECL 41 de *Enterobacter cloacae*.

Concentração da substância	Óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i>	Digluconato de Clorexidina 0,12%
1:1	-	-
1:2	-	-
1:4	-	-
1:8	-	-
1:16	-	-
1:32	-	-
1:64	-	-
1:128	-	-
1:512	-	-
1:1024	-	-

Legenda: (-) Houve adesão microbiana na parede do tubo; (+) não houve adesão bacteriana na parede do tubo.

Fonte: Autoria Própria (2023).

Já o trabalho de Gomes *et al.* (2021), utilizando a mesma metodologia da concentração inibitória mínima de aderência, mostrou que o óleo essencial de *Lavandula hybrida Grosso* apresentou boa atividade antiaderente contra cepas de *Staphylococcus aureus*, onde foi necessária uma concentração do óleo essencial 4 vezes menor que a concentração da Clorexidina (controle positivo) para impedir a formação de biofilme no tubo de vidro.

Diversos estudos comprovaram a capacidade dos óleos essenciais de inibirem o crescimento microbiano e a formação de biofilmes de diversas espécies bacterianas. No entanto, algumas espécies bacterianas, como a *Enterobacter cloacae*, apresentam alta patogenicidade e elevada resistência a antimicrobianos, incluindo a clorexidina, substância tida como antisséptico “padrão ouro” na odontologia. Dessa forma, torna-se necessário utilizar novas abordagens (como experimentar outros tipos de óleos essenciais) e metodologias diferentes para buscar resultados promissores, não reduzindo a

relevância desse estudo para a literatura científica, visto que será utilizado como base para outros pesquisadores. Além disso, verifica-se a necessidade de encontrar um novo “padrão ouro” na odontologia, uma substância que possua capacidade de inibir a adesão dessa e outras espécies bacterianas e que sirvam de comparação (controle positivo) em outros experimentos futuros, tendo em vista que a clorexidina não foi capaz de inibir a formação do biofilme da cepa testada.

Portanto, fica evidente que a bactéria alvo do estudo representa um importante problema de saúde pública, uma vez que apresenta alta patogenicidade, elevada resistência aos antimicrobianos atuais e é um importante causador de infecções oportunistas, que culminam em maior tempo de internação do paciente na UTI, aumentando assim os custos para o sistema de saúde, além de possuir altos índices de mortalidade. Dessa forma, o óleo essencial de orégano surge como um potencial agente terapêutico, de origem natural e baixo custo, tendo em vista os altos valores antimicrobianos de CIM e CBM encontrados, podendo atuar como antimicrobiano, antisséptico ou ainda em associação com antibióticos já existentes, com o objetivo de combater as infecções causadas pela *Enterobacter cloacae*. Para isso, novas pesquisas necessitam ser realizadas, com o objetivo de avaliar seu perfil de segurança clínico e espectro de ação frente a outros patógenos, validando os resultados *in vitro* encontrados nessa pesquisa e contribuindo para o combate de patógenos emergentes.

6. CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Origanum vulgare* apresentou elevado potencial antimicrobiano e foi considerado bactericida para a estirpe de *Enterobacter cloacae* testada. Contudo, mostrou-se ineficaz em inibir a aderência da cepa representativa testada desse patógeno na parede do tubo de ensaio mediante a metodologia utilizada. Ainda assim, o óleo essencial em questão poderá ser utilizado como opção terapêutica eficaz para o tratamento de infecções oportunistas causadas pela *Enterobacter cloacae*, nos casos em que este patógeno venha a ser identificado. No entanto, a realização de outros estudos é imprescindível para enfatizar sua eficácia contra outros diferentes tipos de microrganismos e, posteriormente, realizar ensaios *in vivo* para verificar seu perfil de segurança e comportamento no organismo humano.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, A. C. L. *et al.* Efeito antiaderente do extrato da *Matricaria recutita* Linn. Sobre microorganismos do biofilme dental. **Rev Odontol UNESP**, v. 39, n. 1, p. 21-5, 2010.

ARWEILER, N. B.; NETUSCHIL, L. A microbiota bucal. **Microbiota do corpo humano: implicações na saúde e na doença**, p. 45-60, 2016.

BERALDO, CAROLINA CONTADOR; ANDRADE, DENISE DE. Higiene bucal com clorexidina na prevenção de pneumonia associada à ventilação mecânica. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, [s. l.], v. 34, ed. 9, p. 707-714, 23 jan. 2008. DOI doi.org/10.1590/S1806-37132008000900012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpneu/a/Nvz3LYV74YdkbGXYWHKYkKc/abstract/?lang=pt#>. Acesso em: 07 abr. 2023.

BIOFILMES: como influenciam na qualidade da sua água?. *In: Biofilmes: como influenciam na qualidade da sua água?*. Website: Microambiental, 21 nov. 2019. Disponível em: <https://microambiental.com.br/analises-de-agua/servicos-de-higiene-em-sistemas-de-agua/como-os-biofilmes-influenciam-na-qualidade-da-sua-agua/>. Acesso em: 08 abr. 2023.

BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. 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.

CABRAL, A. B. **Caracterização genética de isolados clínicos de *Enterobacter aerogenes* e *Enterobacter cloacae*: determinantes de resistência e virulência**. Orientador: Ana Catarina de Souza Lopes. 2016. 169 p. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

CANSIAN, R. L.; MOSSI, A. J.; OLIVEIRA, D, TONIAZZO, G, TREICHEL, H, PAROUL, N.; ASTOLFI, V.; SERAFINI, L. A. Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e *Eberm* Var. *Linaloolifera fujita*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 378-324, 2010.

CLATWORTHY, A. E.; PIERSON, E.; HUNG, D. T. Targeting virulence: a new paradigm for antimicrobial therapy. **Nature Chemical Biology**, v. 3, p. 541–548, 2007.

CLEELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infections. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. New York: Willians & Wilkins, p. 739-788, 1991.

CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R. M.; SCHUCH, L. F. D.; RODRIGUES, M. R. A.; MEIRELES, M. C. A.; MELLO, J. R. B. D. Atividade *in vitro* do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente à *Sporothrix schenckii*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 513-516, 2008.

CLSI, CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (Wayne, Pennsylvania). **Métodos de Testes de Susceptibilidade Antimicrobiana de Diluição para Bactérias que Crescem Aerobicamente. Norma aprovada, 9ª edição, Documento CLSI M07- A9, Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais, Wayne. Pennsylvania: CLSI; 2012.** 11. ed. [S. l.: s. n.], 2018. ISBN 1-56238-837-1. Disponível em: https://clsi.org/media/1928/m07ed11_sample.pdf. Acesso em: 01 maio 2023.

CORDEIRO, L.; STANGUERLIN, D.; COPATTI, F.; SANTANAR, G. R. O.; MARCO, I.; SCHITTLER, L. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ORÉGANO E DE ALECRIM E BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS CONTRA *Escherichia coli* E *Staphylococcus aureus*. **Simpósio em Saúde e Alimentação**, v. 3, 2019.

DE PASQUALE, A. Pharmacognosy: oldest modern science. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.l.], v. 11, p. 1-6, 1984.

FERREIRA, J. Á.; LONDE, L. P.; MIRANDA, A. F. A relevância do cirurgião-dentista na Uti: educação, prevenção e mínima intervenção. **Revista Ciências e Odontologia**, v. 1, n. 1, p. 18-23, 2017.

GERMANO, V. E.; XAVIER, C. M. R.; JALES, M. M. S.; ALBUQUERQUE, T. V. G.; LIMA, E. L. F.; RIBEIRO, L. H. 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, 2018.

GOMES, LUCAS LINHARES. **Potencial antimicrobiano e antiaderente do óleo essencial de *Lavandula hybrida grosso* contra cepas de *Staphylococcus aureus***. Orientador: Abrahão Alves de Oliveira Filho. 2021. 53 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em odontologia) - Universidade Federal de Campina Grande, [S. l.], 2021. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/23881>. Acesso em: 07 jun. 2023.

GUERRA, FELIPE QUEIROGA SARMENTO. **Atividade antibacteriana do óleo essencial de Citrus limon frente cepas multidroga resistentes do gênero *Acinetobacter***. Orientador: Edeltrudes de Oliveira Lima. 2012. 70 p. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB, 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/tede/6723>. Acesso em: 16 fev. 2023.

HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical**

Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques, v. 11, n. 3, p. 137-147, 2000.

HAFIDH, R. R.; ABDULAMIR, A. S.; VERN, L. S.; ABU BAKAR, F.; ABAS, F.; JAHANSHIRI, F.; SEKAWI, Z. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. **The open microbiology journal**, v. 5, p. 96-106, 2011. DOI: 10.2174/1874285801105010096.

INTERFISIO (ed.). **A avaliação das pressões de cuff nas vias aéreas artificiais de pacientes intubados e sob assistência ventilatória mecânica**. 21 nov. 2019. Foto de um paciente fazendo uso de ventilação mecânica. Disponível em: <https://interfisio.com.br/a-avaliacao-das-pressoes-de-cuff-nas-vias-aereas-artificiais-de-pacientes-intubados-e-sob-assistencia-ventilatoria-mecanica/>. Acesso em: 18 fev. 2022.

KUBIÇA, T. F. **Atividade antiviral de óleos essenciais e monoterpenos contra vírus de bovinos e felinos como potenciais modelos para vírus humanos**. Santa Maria, 2012. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, 2012.

LIMA, I. O. **Atividade antifúngica e toxicidade dos monoterpenos citral e carvacrol**. João Pessoa, 2011. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - Concentração: Farmacologia). Universidade Federal da Paraíba, 2011.

LÔBO, K. M. S.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, A. M. A.; RODRIGUES, F. F. G.; LÔBO, I. S.; BEZERRA, D. A. C.; COSTA, J. G. M. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) DF Austin & Staples, do semi-árido paraibano. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 2, p. 227-233, 2010.

LOJA EMPÓRIO BOM PRATO (Avenida Jove Soares 831, Itaúna-MG). **Orégano (*Origanum vulgare*) 100g**. 21 nov. 2019. Imagem da planta e folhas trituradas do orégano. Disponível em: <https://emporiobomprato.com.br/produto/oregano-100g/>. Acesso em: 6 abr. 2022.

MEZZATESTA, M. L.; GONA, F.; STEFANI, S. Complexo *Enterobacter cloacae*: impacto clínico e resistência a antibióticos emergente. **Microbiologia futura**, v. 7, n. 7, p. 887-902, 2012.

MICROAMBIENTAL (São Caetano do Sul – SP). **Biofilmes: como influenciam na qualidade da sua água?**. 21 nov. 2019. Figura esquemática da composição de um Biofilme em tubulação. Disponível em: <https://microambiental.com.br/analises-de-agua/servicos-de-higiene-em-sistemas-de-agua/como-os-biofilmes-influenciam-na-qualidade-da-sua-agua/>. Acesso em: 01 jun. 2023.

MOURA, A. P. G. **Avaliação da atividade antitumoral e toxicológica do óleo essencial dos frutos de *Xylopia langsdorffiana* St. Hil. & Tul.**

(**Annonaceae**). João Pessoa, 2012. Dissertação (Mestrado) - Curso de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Programa de Pós-graduação, Universidade Federal da Paraíba, 2012.

NCUBE, N. S.; AFOLAYAN, A. J.; OKOH, A. I. Técnicas de avaliação de propriedades antimicrobianas de compostos naturais de origem vegetal: métodos atuais e tendências futuras. **Jornal Africano de Biotecnologia**, v. 7, n. 12 de 2008.

OLIVEIRA, L. C. B. S.; CARNEIRO, P. P. M.; FISCHER, R. G.; TINOCO, E. M. B. A presença de patógenos respiratórios no biofilme bucal de pacientes com pneumonia nosocomial. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, p. 428-433, 2007.

OLIVEIRA, A. C. M.; FONTANA, A.; NEGRINI, T. C.; NOGUEIRA, M.N.M.; BEDRAN, T.B.L.; ANDRADE, C. R.; SPOLIDORIO, L. C.; SPOLIDORIO, D.M.P. Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. **Rev. brasileira de plantas medicinais**, v. 13, n.4, p. 492-499, 2011.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 301-307, 2008.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

PETER, K. V. Growth habit of wild oregano populations. **Handbook of herbs and spices**, v. 2, 2004.

PINHEIRO, T. S.; ALMEIDA, T. F. A saúde bucal em pacientes de UTI. **Journal of Dentistry & Public Health**, v. 5, n. 2, p. 95-103, 2014.

POTRON, A.; POIREL, L.; RONDINAUD, E.; NORDMANN, P. Disseminação intercontinental de *Enterobacteriaceae* produtoras de OXA-48 beta-lactamase durante um período de 11 anos, 2001 a 2011. **Eurosurveillance**, v. 18, n. 31, p. 20549, 2013.

RASKO, D. A.; SPERANDIO, V. Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 9, p. 117-128, 2010.

REHDER, V. L. G.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; SARTORATTO, A.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T. Composição química e atividade

antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum applii* e *Origanum vulgare*. **Rev Bras PI Med**, v. 6, n. 2, p. 67-71, 2004.

RODRIGUES, A. G.; DE SIMONI, C. Plantas medicinais no contexto de políticas públicas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 7-12, 2010.

ROSA, J. F. **Caracterização molecular dos mecanismos de resistência aos carbapenêmicos de isolados clínicos de Enterobacter aerogenes e Enterobacter cloacae**. 2015. Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. DOI: 10.11606/D.5.2016.tde-11012016-142655.

SANTOS, T. G.; REBELO, R. A.; DALMARCO, E. M.; GUEDES A.; GASPER, A. L.; CRUZ, A. B.; SCHMIT, A. P.; CRUZ, R. C. B.; STEINDEL, M.; NUNES, R. K. Composição química e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Piper malacophyllum* (C. Presl.) C. DC. **Química Nova**, v. 35, p. 477-481, 2012.

SARTO, M. P. M.; JUNIOR, G. Z. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Uningá Review**, v. 20, n. 1, p. 1-8, 2014.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELENA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Braz J Microbiol**, v.35, p.275-280, 2004.

SILVA, J. P. L.; ALMEIDA, J. M. D.; PEREZ, D. V.; FRANCO, B. D. G. M. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella Enteritidis*. **Food Science and Technology**, v. 30, p. 136-141, 2010.

SILVA, I. L. **Relação da microbiota oral em pacientes com pav (pneumonia associada à ventilação mecânica) na uti (unidade de terapia intensiva)**. Bragança Paulista, 2013. 46 f. TCC (Graduação) - Curso de Odontologia, Universidade de São Francisco, 2013.

SILVA, S. L.; ARAÚJO, F. S. M.; SILVA, P. O. A.; SILVA, E. V. A.; BEZERRA, M. M. S. L.; DINIZ, A. F.; OLIVEIRA, D. M.; JESUS, H. O.; NASCIMENTO JÚNIOR, B. B.; MEDEIROS, L. A. D. M.; OLIVEIRA FILHO, A. A. Evaluation of the antimicrobial effect of the *Origanum vulgare* L essential oil on strains of *Klebsiella pneumoniae*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, 2023.

TRINDADE, L. A.; OLIVEIRA J. A.; CASTRO R. D.; LIMA E. O. Inhibition of adherence of *C. albicans* to dental implants and cover screws by *Cymbopogon nardus* essential oil and citronellal, **Clinical Oral Investigations**, v. 19, p.1-8, 2015.

VALE, L. A. **Ação de óleos essenciais sobre biofilme formado por cronobacter sakazakii em superfície de polipropileno**. Orientador: Dra.

Roberta Hilsdorf Piccoli. 2015. 73 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, 2015.