Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.10, 2023
ISSN 2178-6925

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

ANTIMICROBIAN AND ANTIADERENT POTENTIAL OF *Origanum vulgare* ESSENTIAL OIL AGAINST *Enterobacter cloacae.*

Pedro Odon Almeida Silva
Graduando em Odontologia
Universidade Federal de Campina Grande, Patos/PB, Brasil
E-mail: pedroodon26@gmail.com

Emanoel Vitor Alves da Silva
Graduando em Odontologia
Universidade Federal de Campina Grande, Patos/PB, Brasil
E-mail: emanoel.vitor.alves@gmail.com

Fernanda Sthéfanie Medeiros de Araújo
Graduanda em Odontologia
Universidade Federal de Campina Grande, Patos/PB, Brasil
E-mail: Fernanda.sjs77@gmail.com

Maria Alice Araújo de Medeiros
Doutoranda em Ciência e Saúde Animal
Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB, Brasil
E-mail: medeirosallice22@gmail.com

Abrahão Alves de Oliveira Filho
Doutor em Farmacologia
Universidade Federal de Campina Grande, Patos/PB, Brasil
E-mail: abrahao.alves@professor.ufcg.edu.br

Resumo

A *Enterobacter cloacae*, bactéria encontrada na microbiota intestinal de indivíduos saudáveis, pode representar um importante microrganismo oportunista causador de infecções hospitalares, como pneumonias nosocomiais em pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI´s). Essa bactéria apresentou resistência a vários antimicrobianos disponíveis no mercado. Por isso, vale salientar a crescente busca por produtos naturais, dentre eles os óleos essenciais, pois são produtos de origem vegetal, de baixo custo e fácil acesso por parte da população. Dentre os óleos essenciais que apresentam atividade antimicrobiana, antifúngica e antiaderente está 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 orifícios 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%. Deste modo, 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. Sendo assim, foi possível concluir que o óleo essencial de *Origanum vulgare* apresentou elevado potencial antimicrobiano e foi considerado bactericida, embora inexista atividade antiaderente frente à cepa ECL 41, nas concentrações testadas e na metodologia aplicada.

Palavras-chave: Fitoterapia; Microbiologia; Odontologia.

Abstract

Enterobacter cloacae, a bacterium found in the gut microbiota of healthy individuals, may represent an important opportunistic microorganism causing hospital-acquired infections, such as nosocomial pneumonia in patients admitted to Intensive Care Units (ICUs). This bacterium has shown resistance to several antimicrobials available on the market. Therefore, it is worth emphasizing the growing search for natural products, among them essential oils, because they are products of plant origin, low cost and easy access by the population. Among the essential oils that present antimicrobial, antifungal and anti-adherent activity is *Origanum vulgare*. Thus, the objective of this research was to analyze the antibacterial and anti-adherent activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Enterobacter cloacae*. Methodological tests were carried out using the broth microdilution techniques in 96-hole 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 (MIC), in the presence of 5% sucrose. Thus, it was found that the essential oil of *Origanum vulgare* presented an MIC of 128 µg/mL and MBC of 256 µg/mL against *Enterobacter cloacae*. On the other hand, the MIC of the essential oil and the positive control (Chlorhexidine Digluconate 0.12%) was not found at the concentrations experimented. Thus, it was possible to conclude that the essential oil of *Origanum vulgare* presented high antimicrobial potential and was considered bactericidal, although there was no anti-adherent activity against the ECL 41 strain, at the concentrations tested and in the methodology applied.

Keywords: Phytotherapy; Microbiology; Dentistry.

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 associado 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 representa 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. Esses microrganismos 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, torna-se um desafio para a 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 nas mucosas da cavidade oral e tubos orotraqueais de paciente intubados) pode ser aspirado ou ainda adentrado à 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 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 possuírem 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 e colaboradores (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 estão os óleos essenciais, compostos derivados do metabolismo secundário de plantas, 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 e colaboradores (2019), o óleo essencial de orégano apresentou atividade antimicrobiana contra cepas de *E. coli* e *S. aureus*. Segundo o estudo, 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. Logo, evidencia-se que o óleo essencial de orégano apresenta atividade antimicrobiana e antiaderente 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 *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 à pacientes hospitalizados.

2. Metodologia

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

3.1 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).

3.2 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. Para a realização dos ensaios, foram feitos repiques de 24 horas em AMH incubados a 35°C. Ainda, um inóculo bacteriano de aproximadamente 1,5 x 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).

3.3 Determinação da CIM (concentração inibitória mínima)

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 micro-organismo e no último poço o controle negativo, com apenas 200µL do caldo. Todo o ensaio foi realizado em duplicata. As placas foram incubadas a 35ºC 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 37ºC. 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 micro-organismo. A CIM foi determinada como a menor concentração do óleo essencial que inibiu o crescimento visível da *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).

3.4 Determinação da CBM (concentração bactericida mínima)

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 37ºC por 24 horas. Após esse tempo, foi adicionado 20µL de resazurina sódica (SIGMA). Os ensaios foram incubados novamente a temperatura de 37ºC por mais 24 horas para confirmação da concentração capaz de inibir o crescimento total das espécies bacterianas, verificado por uma não mudança da coloração do corante indicador (Ncube *et al*., 2008; Guerra *et al*., 2012).

3.5 Determinação da CIMA (concentração inibitória mínima de aderência)

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 37ºC em caldo Mueller Hinton (DIFCO®, Michigan, Estados Unidos), por conseguinte, 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 37ºC por 24 horas com os tubos de ensaios inclinados em 30º. 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 ao tubo de vidro foi considerada a CIMA.

3. Resultados e discussões

A partir dos ensaios laboratoriais realizados foi possível observar que o óleo essencial de *Origanum vulgare* 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 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 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 a cepa de *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 µg/mL do óleo essencial de *Origanum vulgare* contra a cepa de *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 morte bacteriana; (-) não houve morte bacteriana.
Fonte: Autoria Própria (2023).

Conforme proposto por Sartoratto e colaboradores (2004), a atividade antimicrobiana para óleos essenciais é classificada como forte quando estes apresentarem uma CIM de até 500µg/mL, moderada para valores de CIM entre 600 a 1500µg/mL e fraca para CIM acima de 1500µg/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 128µg/mL.

Já de acordo com Hafidh e colaboradores (2011), para uma substância ser considerada bactericida ou bacteriostática consoante a sua CBM esta deve ser, de modo respectivo, igual ou duas vezes maior que a CIM ou, a CBM ser maior que duas vezes a 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 256µg/mL.

Os resultados encontrados corroboram com os estudos de Cordeiro e colaboradores (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.

Em contraste aos resultados encontrados, o estudo de Santos e colaboradores (2012), demonstrou que o óleo essencial extraído das folhas de *Piper malacophyllum (C. Presl.)* apresentou uma CIM acima de 1850µg/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 baumanii*, utilizando a mesma metodologia da CIM e CBM empregada em nossa pesquisa, destacando dessa forma os resultados promissores encontrados no óleo essencial de orégano.

Por sua vez, 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 concentração (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 concentração 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, os estudos de Silva e colaboradores (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 Origanum vulgare	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: (-) Sem adesão na parede do tubo; (+) Com adesão bacteriana na parede do tubo.
Fonte: Autoria Própria (2023).

Já o trabalho de Gomes (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 ser 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. 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 buscando avaliar seu perfil de segurança clínico e espectro de ação frente a outros patógenos, validando os resultados in vivo encontrados nessa pesquisa e contribuindo para o combate de patógenos emergentes.

4. 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.

BONA, Eliana Almeida Mira De *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.

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.

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

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 MO7- 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, Letícia *et al*. 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.

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 Paraiba, 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**, vol. 5 (2011): 96-106. DOI: 10.2174/1874285801105010096.

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 Medicinais**, v. 12, n. 2, p. 227-233, 2010.

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

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, A. C. M. *et al*. 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. *et al*. 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, Juan-Carlos *et al*. 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.

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, pág. 20549, 2013.

SANTOS, Thalita Gilda *et al*. 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.

SARTORATTO, A. *et al*. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Braz J Microbiol**, v.35, p.275-280, 2004.

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. *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, 2023.