

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
BACHARELADO EM ODONTOLOGIA**

ELAINE ROBERTA LEITE DE SOUZA

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIADERENTE DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Lavandula* HÍBRIDA GROSSO CONTRA CEPAS DE *Klebsiella*
*pneumoniae***

**PATOS - PB
2019**

ELAINE ROBERTA LEITE DE SOUZA

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIADERENTE DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Lavandula* HÍBRIDA GROSSO CONTRA CEPAS DE *Klebsiella
pneumoniae***

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

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho

**PATOS - PB
2019**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

S729p

Souza, Elaine Roberta Leite de

Potencial antimicrobiano e antiaderente do óleo essencial de *lavandula* híbrida grosso contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* / Elaine Roberta Leite de Souza. – Patos, 2019.

62f.: il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Odontologia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2019.

"Orientação: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho".

Referências.

1. Plantas medicinais. 2. Ação antimicrobiana. 3. Aderência bacteriana.
I. Título.

CDU 616.314

ELAINE ROBERTA LEITE DE SOUZA

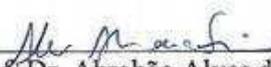
**POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIADERENTE DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Lavandula* HÍBRIDA GROSSO CONTRA CEPAS DE *Klebsiella
pneumoniae***

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

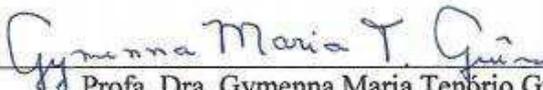
Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de
Oliveira Filho

Aprovado em 22/04/19

BANCA EXAMINADORA



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



Profa. Dra. Gymenna Maria Tenório Guênes
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG



Profa. Dra. Maria Angélica Satyro Gomes Alves
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

**PATOS – PB
2019**

AGRADECIMENTOS

A Deus pelas graças e objetivos alcançados, pela fé que me moveu mesmo nos caminhos mais difíceis e tortuosos.

A minha família e em especial meus pais, Jeanne e Mendes e a minha avó Genilda, por todo amor e carinho recebido durante esse percurso, pelo incentivo de sempre continuar em frente apoiando sempre minhas escolhas e me mostrando que a vida não é só feita de flores pelo caminho, a vocês dedico o maior amor do mundo.

Aos meus amigos maravilhosos, José Henrique, Lucas, Laíse e Itamar, que estiveram comigo durante esses anos. Sem vocês, esses cinco anos não teriam sido tão especiais.

Agradecimento especial a minha eterna dupla e melhor amiga, Nílvia Maria. Amiga que a vida e o destino me deram de presente, companheira para todas as horas, cuja amizade ultrapassou qualquer barreira. Agradeço a Deus todo tempo por ter encontrado você aqui. Te amo muito!

A todos integrantes da Liga Acadêmica de Fitoterapia, Bioquímica e Microbiologia Bucal - LAFBIM, pela ajuda na realização dos experimentos e amizade construída ao longo deste período.

A todos os funcionários da UFCG, que durante esses longos cinco anos sempre estiveram dispostos a ajudar os alunos. Que Deus abençoe vocês.

Aos meus pacientes que confiaram em mim e me ajudaram a aprender.

A todos os meus professores, que me ensinaram a arte da Odontologia e, principalmente, a arte de cuidar e de ser humano.

A mãe que a UFCG me deu, Angélica Sátyro. Palavras não podem descrever minha admiração por você.

A professora Gymenna, por todo apoio e conselhos. Obrigada por aceitar fazer parte da minha banca.

Ao meu Super Professor Orientador, Abrahão Alves, por toda confiança e apoio durante o desenvolvimento do trabalho e, principalmente, por acreditar em mim.

A todas as pessoas que me ajudaram, direta e indiretamente no decorrer do curso. Sem vocês, eu não estaria aqui.

EPÍGRAFE

“Sempre haverá uma outra montanha

Eu sempre vou querer movê-la

Sempre será uma batalha difícil

Às vezes eu vou ter que perder

Não é sobre o quão rápido chegarei lá

Não é sobre o que está me esperando do outro lado

É a escalada”

The Climb - Miley Cyrus

SOUZA, E. R. L. **Potencial antimicrobiano e antiaderente do óleo essencial de *Lavandula* híbrida Grosso contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*.** Patos, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, 2019, 62p.

RESUMO

Introdução: A utilização de produtos de origem vegetal na odontologia constitui uma alternativa na prevenção e combate de diversas patologias que acometem os seres humanos. A *Klebsiella pneumoniae* é uma bactéria gram-negativa que está intimamente relacionada com a pneumonia nosocomial e que possui a capacidade de intaiar um grande número de agentes antimicrobianos. A *Lavandula* Híbrida é uma espécie derivada da união da *Lavandula angustifolia* Miller com a *Lavandula latifolia* Linn. Essa espécie apresenta as variedades Abrialli, Grosso, Provence, Impress purple, e Super, sendo a variedade Grosso como a que mais demonstrou atividade antimicrobiana. **Objetivo** avaliar a atividade antibacteriana e antiaderente do óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso contra cepas de *K. pneumoniae*. **Metodologia:** Os ensaios foram realizados utilizando as técnicas de microdiluição em caldo em placas de 96 poços para determinação da CIM e CBM e técnica de tubos inclinados para determinação da CIMA ao vidro, na presença de 5% de sacarose. **Resultados:** obteve-se que o óleo essencial de *Lavandula* híbrida Grosso possui uma moderada atividade antibacteriana contra as cepas de *K. pneumoniae* visto pela $CIM_{50} = 1.024 \mu\text{g/ml}$, possuindo também um potencial bacteriostático. Quanto a sua atividade antiaderente, observou-se que a concentração do óleo capaz de inibir a adesão do microrganismo a parede do tudo foi de 1:32 enquanto que para o digluconato de clorexidina 0,12% foi de 1:8. **Conclusão:** a *Lavandula* Híbrida demonstra ser eficaz como agente antimicrobiano e antiaderente para o controle e prevenção da infecção por *Klebsiella pneumoniae*.

Palavras chave: Plantas Medicinais. Ação Antimicrobiana. Aderência Bacteriana.

ABSTRACT

Introduction: The use of products of plant origin in dentistry is an alternative in the prevention and combat of several pathologies that accompany humans. *Klebsiella pneumoniae* is a gram-negative bacterium that is closely related to nosocomial pneumonia because it has the ability to inactivate a large number of antimicrobial agents. *Lavandula Híbrida*, also known as Lavandin is a species derived from the union of *Lavandula angustifolia* Miller with *Lavandula latifolia* Linn. This species presents the varieties Abrialli, Grosso, Provence, Impress purple, and Super. Among them, the species that most demonstrated antimicrobial potential was the Grosso variety. **Objective:** to evaluate the antibacterial and nonstick activity of *Lavandula Hybrid* Grosso essential oil against strains of *Klebsiella pneumoniae*. **Method:** The assays were carried out using broth microdilution techniques in 96-well plates for determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and sloped tube technique for the determination of Minimum Inhibitory Adherence Concentration (MICA) to the glass, in the presence of 5% sucrose. **Results:** It was obtained that the essential oil of *Lavandula hybrida* Grosso has a moderate antibacterial activity against the strains of *K. pneumoniae* seen by the MIC₅₀ equal to 1024 µg/ml, also possessing a bacteristatic potential. As to its anti-adherent activity, it was observed that the concentration of oil capable of inhibiting the adhesion of the microorganism to the wall of the whole was 1:32 whereas for the chlorhexidine digluconate 0,12% was 1:8. **Conclusion:** In accordance with the results of the present study, *Lavandula Hybrid* demonstrated to be effective as an antimicrobial and anti-adherent agent for the control and prevention of *Klebseilla pneumoniae* infection.

Keywords: Medicinal Plants. Antimicrobial Action. Bacterial Adhesion.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais fitoconstituintes da <i>Lavandula</i> Híbrida.....	26
Tabela 1 - Concentração inibitória mínima (CIM) em µg/ml do do Óleo essencial de <i>Lavandula</i> Híbrida Grosso contra diferentes cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	45
Tabela 2 - Concentração Bactericida Mínima (CBM) em µg/ml do Óleo essencial de <i>Lavandula</i> Híbrida Grosso contra diferentes cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	46
Tabela 3 – Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) em µg/ml do do Óleo essencial de <i>Lavandula</i> Híbrida Grosso e do digluconato de Clorexidina 0,12% contra diferentes cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> 102.....	46

LISTA DE FIGURAS

Imagem 1 - Formação do biofilme.....	16
Imagem 2 - Constituição microscópica da <i>Klebsiella pneumoniae</i>	19
Imagem 3 - <i>Klebsiella pneumoniae</i> no meio de cultura ágar MacConkey.....	20
Imagem 4 - <i>Lavandula angustifolia</i> , <i>Lavandula latifolia</i> e sua união estéril <i>Lavandula</i> híbrida.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMH - Ágar Muller Hinton

ANVISA – Agencia Nacional de Vigilância Sanitária

ATP – Trifosfato de adenosina

CBM – Concentração Bactericida Mínima

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CIMA – Concentração Inibitória Mínima de aderência

CG-EM – Cromatografia gasosa-espectroscopia de massa

DMSO – Dimetilsulfóxido

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EUA – Estados Unidos da América

E. coli – *Escherichia coli*

et al – Colaboradores

HU – Hospital Universitário

ISO - International Standart Organization

K. pneumoniae / Kp – *Klebsiella pneumoniae*

KPC - *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*

mg/ml – Miligramas pro mililitro

PAVM – Pneumonia Associada a Ventilação Mecânica

PCR - Reação em cadeia da polimerase

RS – Rio Grande do Sul

S. mitis - *Streptococcus mitis*

S. mutans - *Streptococcus mutans*

S. salivarius - *Streptococcus salivarius*

ssp – Subespécie

SNC - Sistema nervoso central

TSI - Tríplice Açúcar Ferro

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

UFRN - Universidade Federal do Rio Grande do Norte

UFTM – Universidade Federal do Triângulo Mineiro

UV – Ultravioleta

µg/ml – Micrograma por mililitro

µ – Micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1 Biofilme Oral.....	14
2.2 Pneumonia nosocomial e interrelação cavidade oral e doenças respiratórias	17
2.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	19
2.4 Potencial antimicrobiano dos óleos essenciais e utilização na odontologia.....	22
2.5 <i>Lavandula</i> Híbrida Grosso	24
2.5.1 Gênero <i>Lavandula</i>	24
2.5.2 <i>Lavandula</i> Híbrida Grosso.....	25
2.5.3 Potencial antimicrobiano da <i>Lavandula</i> Híbrida Grosso.....	28
3 REFERÊNCIAS	30
4 ARTIGO	39
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
ANEXO	58

1 INTRODUÇÃO

A cavidade bucal é hospedeira de diversos microrganismos, abrigando cerca de metade de toda a microflora existente no corpo humano o que inclui várias espécies de fungos, vírus e bactérias (LOTUFO et al., 2005; ASS et al., 2005; DEWHIRST et al., 2010; PALMER, 2014). A descamação fisiológica das superfícies corporais dificulta o acúmulo desordenado de microrganismos no corpo, porém, devido a presença de superfícies não descamativas na cavidade bucal, tal controle é possível apenas com a higienização oral regular, prevenindo as doenças que acometem a cavidade oral (MORAIS et al., 2010).

O biofilme dental, chamado também de placa bacteriana compreende o principal fator relacionado com o surgimento de cárie dentária e doenças periodontais (PINA-VAZ, 2011). Sua formação se dá por intermédio de um processo ordenado e dinâmico que vão desde a formação da película adquirida, adesão microbiana inicial e maturação da placa bacteriana (SILVA et al., 2008; LEITES et al., 2006; SONCINI-JR et al., 2003; BATISTA et al., 2015; PADOVANI et al., 2012). Como métodos para o controle do biofilme pode-se citar a escovação mecânica e uso de colutórios, como o Digluconato de clorexidina a 0,12%, entretanto, os efeitos colaterais advindos da utilização prolongada da clorexidina estimulam a busca por outros métodos químicos de controle do biofilme (GANDOLFO et al., 2018; DE ANDRADE et al., 2010; MUNIS et al., 2014).

Oliveira et al. (2012) relata que patógenos envolvidos em infecções respiratórias não são comumente encontrados na microbiota bucal de indivíduos saudáveis, contudo pacientes hospitalizados estão predispostos à colonização do biofilme oral por esses microrganismos. Além disso, os componentes do biofilme podem prevenir a penetração de agentes antibióticos no biofilme, tornando esses patógenos mais resistentes aos antimicrobianos, dificultando sua eliminação (SMITH et al., 2001; MORAIS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2012). Somado a isso, os pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) constantemente apresentam uma má higiene bucal, com aumento substancial do biofilme bucal e isso, associado ao uso constante de medicamentos capazes causar hipossalivação aumenta as chances de estabelecimento e manutenção desse biofilme (SACHDEV et al., 2013).

A pneumonia nosocomial, pneumonia hospitalar ou pneumonia associada a ventilação mecânica (PAVM) representa uma infecção no parênquima pulmonar nas vias aéreas inferiores, sendo diagnosticadas 48 horas após a internação do paciente, não estando presentes nem incubadas anteriormente à data de internação (ALOATABI et al., 2014). Entre os microrganismo associados ao desenvolvimento dessa infecção pode-se citar: *Acinetobacter*,

Staphylococcus aureus, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* e *Proteus mirabilis* sendo que tais organismos foram achados tanto na microbiota oral quanto pulmonar em vários estudos, reforçando a correlação entre o biofilme bucal com o desenvolvimento de infecções respiratórias (COPPADORO et al., 2012; CRUZ et al., 2014; ALOATABI et al., 2014).

A *Klebsiella pneumoniae* é uma bactéria gram-negativa, pertencente à família das *Enterobacteriaceae*, encapsulada, que cresce frequentemente em meio aeróbio, com forma de bastão, não esporulado e não móvel, cujo tamanho pode variar de 0,3 a 1 μ de diâmetro e 0,6 a 6 μ de comprimento e que está intimamente relacionada com a pneumonia nosocomial. Por produzir a enzima *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC), que possui a capacidade de inativar um grande número de agentes antimicrobianos, é atualmente dita como a principal causadora de certas infecções devido à resistência que confere aos medicamentos (MARTÍNEZ et al., 2004; OLIVEIRA, 2010; ANVISA, 2011).

Saigg e Silva (2009) fundamentam que a utilização de plantas medicinais, que são ricas em substâncias biologicamente ativas, é capaz de estimular reações metabólicas que contribuem para a prevenção e tratamento de diversas doenças. Os óleos essenciais, assim como seus componentes majoritários (terpenos, flavonóides, taninos, etc), possuem diversas propriedades farmacológicas documentadas tornando-os também importantes fontes de novos fármacos (SANTOS et al., 2015; K MAURYA et al., 2014; FRIKECHE et al., 2015; JÚNIOR et al., 2014). Assim, o potencial antimicrobiano dos óleos essenciais e seus componentes tem despertado interesse por serem compostos, em sua maioria, com baixa toxicidade, boa eficácia e baixo custo (AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007; BADUY, 2013)

A *Lavandula* híbrida, também conhecida como Lavandin é uma espécie derivada da união da *Lavandula angustifolia* Miller com a *Lavandula latifolia* Linn. Essa espécie apresenta as variedades Abrialli, Grosso, Provence, Impress purple, e Super. Entre eles, a espécie que mais demonstrou potencial antimicrobiano foi a variedade Grosso. A *Lavandula* híbrida, é caracterizada por um conteúdo elevado de linalol, acetato de linalol, borneol, cânfora, β -pineno, α -pineno e 1,8-cineol. Entre estes, a cânfora, o linalol e o acetato de linalol são os principais determinantes da qualidade do óleo essencial. (UPSON et al., 2004; LIS-BALCHIN, 2002; MACHADO et al., 2013; RODRIGUEZ FLORES et al., 2014).

Apesar de não ser bem visto pela indústria de perfumes pelo seu elevado conteúdo de 1-8 cineol e de cânfora, o óleo essencial de *Lavandula* híbrida desperta interesse da indústria farmacêutica por apresentar-se como um bom agente antimicrobiano visto em estudos contra bactérias gram+ e gram-. Entretanto, a falta de estudos sobre suas atividades e seu mecanismo

de ação, principalmente contra outros patógenos instiga a necessidade de se realizar mais pesquisas (TARDUGNO et al., 2018).

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho é avaliar a atividade antibacteriana e antiaderente do óleo essencial de *Lavandula* híbrida Grosso contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* usando para isso a análise da sua Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Biofilme Oral

O corpo humano é diária e constantemente exposto à colonização por muitos microrganismos vivendo geralmente em uma relação simbiótica. Todavia, a descamação fisiológica que ocorre na superfície corporal dificulta o acúmulo desordenado de microrganismos (LOTUFO et al., 2005). Praticamente a metade da microbiota presente no corpo humano encontra-se na cavidade oral, que também sofre colonização por esses microrganismos, onde nela se encontram várias espécies de bactérias, fungos e vírus (LOTUFO et al., 2005; ASS et al., 2005; DEWHIRST et al., 2010; PALMER, 2014). Entretanto, a presença de superfícies não descamativas como esmalte, cimento, próteses, entre outros, aliado a falta de higienização oral facilita o desenvolvimento de grandes depósitos de microrganismos na cavidade oral, denominadas de placa bacteriana ou biofilme oral (MORAIS et al., 2010).

A placa bacteriana compreende um aglomerado de microrganismos que formam uma matriz complexa e organizada, com potencial de resistência a agentes antimicrobianos e a eventos imunológicos (BATISTA et al., 2014; PADOVANI et al., 2012). Sua formação se dá basicamente por cinco etapas distintas (IMAGEM 1):

1. Aderência de bactérias nas superfícies duras da cavidade oral formando a película adquirida (minutos após a higienização). A primeira fase de formação do biofilme compreende na fixação de microrganismos nas superfícies não descamativas da cavidade oral produzindo uma fina película. Essa película se forma logo após o surgimento do elemento dentário na cavidade oral (erupção dentária) bem como após a sua higienização. Após a fixação, as bactérias sintetizam exopolissacarídeos (EPS) insolúveis, processo esse que garante a aderência delas em uma matriz orgânica tridimensional, que amadurece rapidamente pela constante deposição e acúmulo de EPS e pela reprodução bacteriana. Essa matriz de EPS possui a capacidade de armazenamento de nutrientes e de água e pode defender os microrganismos da resposta imune, predadores e agentes antimicrobianos que estivessem na boca. (MARINHO E ARAÚJO, 2007; KOLENBRANDER et al., 2005; STOODLEY et al., 2002; CULLER et al., 2014)

Diversos autores ressaltam que tal mecanismo de resistência revela a importância da remoção mecânica do biofilme por meio da escovação, visando impedir ou reduzir ao máximo a adesão de microrganismos na superfície dentária, visto que sua manutenção e maturação pode promover a fixação de bactérias causadoras de diversas patologias, entre elas, as causadoras de infecções de origem respiratória (MARINHO E ARAÚJO, 2007; KOLENBRANDER et al.,

2005; BATISTA et al., 2014; PADOVANI et al., 2012; STOODLEY et al., 2002; CULLER et al., 2014)

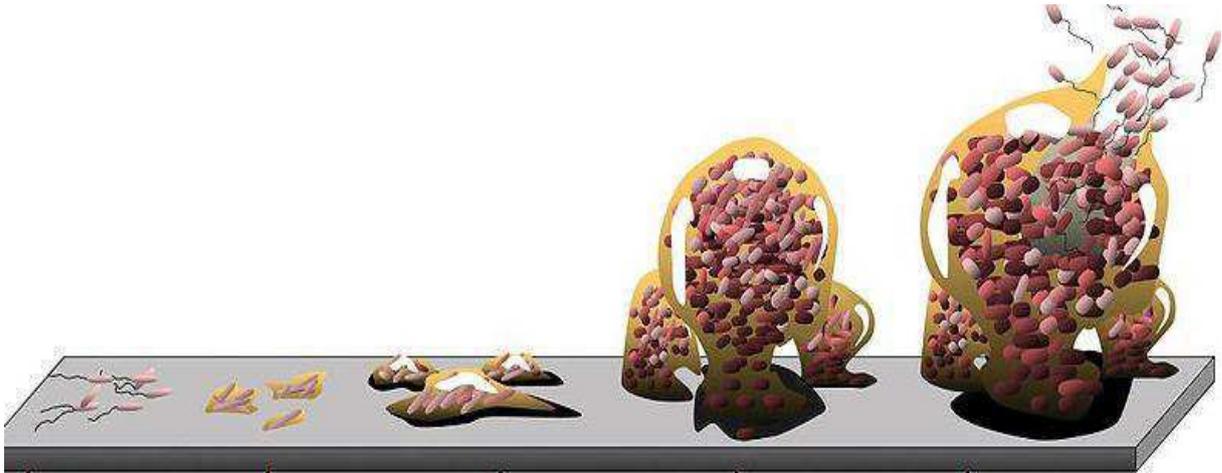
2. Aderência físico-química dos microrganismos isolados com a placa bacteriana inicial (0 – 4h). Os microrganismos presentes na cavidade oral possuem diversos tipos de proteína de adesão em sua membrana celular (adesinas) e possuem a capacidade de interagir com moléculas presentes na cavidade oral assim como com receptores de outros microrganismos (SILVA et al., 2008; LEITES et al., 2006; SONCINI-JR et al., 2003).

3. Aumento da densidade do biofilme pela adesão de microrganismos por receptores específicos e multiplicação das bactérias formando microcolônias (4 – 24h). Quanto maior o contato entre os microrganismos maior a eficiência das interações metabólicas entre elas. Com o tempo, a constante adesão de microrganismos causa importantes mudanças no metabolismo bacteriano e na flora da cavidade oral. Diferentes tipos de microrganismos assim como as diferentes partes do biofilme levam a com eventos fisiológicos distintos, fazendo com que o biofilme atue como um sistema complexo e altamente organizado. (SILVA et al., 2008; LEITES et al., 2006; SONCINI-JR et al., 2003; STOODLEY et al., 2002; CULLER et al., 2014).

4. Biofilme maduro. Nessa fase, ocorre a produção de uma matriz tridimensional funcionalmente organizada com sucessão e co-agregação microbiana (1 – 14 dias). A constante reprodução e acúmulo de microrganismos leva a formação de uma complexa matriz extracelular, constituindo glucanos solúveis e insolúveis, frutanos e heteropolímeros. Estruturalmente, o biofilme apresenta-se em forma de cogumelo, com sua superfície sendo rodeada por canais de água, facilitando a troca de substâncias (oxigênio, nutrientes e metabólitos) com o meio externo. (ROMEIRO et al., 2009; SILVA et al., 2008; ALMEIDA et al., 2002).

5. Os microrganismos podem reagir a sinais do meio e migrar para outros locais, podendo causar diversas doenças. A última fase da formação do biofilme consiste no descolamento do biofilme maduro em forma de agregados celulares ou células planctônicas. Após a sua dispersão, os microrganismos livres podem migrar e colonizar novos ambientes, reiniciando a formação de novos biofilmes (ROMEIRO et al., 2009; SILVA et al., 2008; ALMEIDA et al., 2002; STOODLEY et al., 2002; CULLER et al., 2012).

Imagem 1: Formação do biofilme.



Fonte: <http://knoww.net/ciencterravida/biologia/biofilme/> Adaptado de Tremblay et al., 2012.

Gandolfo et al. (2018), Munis et al. (2014) e de Andrade et al. (2010) relatam que o método mais aceito para o seu controle compreende a remoção mecânica do biofilme através da escovação dentária, entretanto, vários autores relatam que a utilização de agentes químicos que atuem como coadjuvantes para o controle do biofilme, como o Digluconato de Clorexidina 0,12% (forma mais utilizada na odontologia já que apresenta maior solubilidade à substância), são bons métodos complementares de assepsia.

A clorexidina consiste no agente antimicrobiano de origem sintética mais potente e estudado, apresentando uma ótima eficácia e utilizado como padrão ouro para testar a potência de outros agentes antimicrobianos (HORTENSE et al., 2017). Dentre as propriedades apresentadas por essa substância, pode-se citar a substantividade, ou seja, a capacidade de permanecer no local de ação e ser liberado lentamente; eficácia como agente antimicrobiano; segurança, já que diversos estudos revelam uma baixa evidência de toxicidade sistêmica em seres humanos; e um amplo espectro de ação, sendo capaz de atuar tanto em microrganismos gram- quanto gram+ (MARION et al., 2013; OLIVEIRA, 2013; VASCONCELOS, 2015).

Entretanto, os diversos efeitos colaterais causados pelo uso prolongado do Digluconato de Clorexidina 0,12% como a precipitação de cálculo dentário, a perda do paladar e o manchamento dentário estimulam a buscar por outros agentes antimicrobianos (BOHNER, 2013; HOFFMANN, 2008; MOREIRA et al., 2008).

Castro (2001) acrescenta também que na presença de inconvenientes para realização de uma adequada higienização da cavidade oral, como a falta de motivação dos indivíduos ou em situações que o indivíduo apresente limitações locomotoras, como no caso de pacientes internados em UTIs, e tendo como objetivo primário controlar o biofilme dental é oportuno e

essencial a associação de métodos químicos (colutórios) aos métodos mecânicos (escovação) para o controle da microbiota oral.

2.2 Pneumonia nosocomial e interrelação cavidade oral e doenças respiratórias

Recentemente, vários estudos mostraram que a quantidade de depósitos microbianos presentes na cavidade oral de pacientes internados em UTIs aumenta com o período de internação e que, paralelamente a isso, aumenta também o número de patógenos respiratórios que colonizam o biofilme bucal. Por esses patógenos terem a capacidade de se aderir ao biofilme e pelo biofilme formar uma barreira de proteção para as bactérias, sua remoção é mais difícil, tornando esses microrganismos mais resistentes aos medicamentos antibióticos (MORAIS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2014).

Além disso, pacientes internados em UTIs apresentam um déficit imunológico, são acometidos por doenças mais graves, utilizam antibióticos por um longo período de tempo e em grande quantidade, apresentam uma nutrição insuficiente e, quando necessitam de ventilação mecânica o risco de contraírem pneumonia aumenta de 10 a 20 vezes, o que pode levar o paciente a óbito (OLIVEIRA et al., 2014). Somado a isso, o tratamento médico em UTI pode causar diversas complicações orais, pois a frequência com que os pacientes permanecem com a boca aberta, devido à intubação traqueal, causa desidratação oral podendo causar lesões nos tecidos e diminuição da amplitude de abertura bucal, dificultando a sua higienização (JONES et al., 2004).

Martins (2009) relata que os medicamentos utilizados para tratamento de pacientes internados em UTIs podem causar uma redução no fluxo salivar facilitando a formação e manutenção de biofilme bucal. Relata também que nos casos de hipossalivação ocorre o aumento biofilme lingual presente na superfície dorsal da lingual favorecendo o mal hálito devido a presença de derivados do enxofre e servindo de reservatório para bactérias causadoras de infecções a distância.

Um estudo realizado por Cruz et al. (2014), buscou investigar o estado de saúde oral de 35 pacientes internados em UTIs. Para isso, realizou-se a avaliação da cavidade oral em dois momentos distintos, um 48 horas após a admissão e outro 72 horas após a primeira avaliação clínica. Como parâmetros utilizados para descrever a condição oral utilizou-se o índice de placa, a condição da mucosa, a presença ou ausência de prótese dentária, o número de dentes presentes e o índice de saburra lingual. Os resultados obtidos demonstraram que 33% dos pacientes foram entubados, prevalência de infecção hospitalar em 22%, 50% de infecções respiratórias e 50% das infecções na corrente sanguínea, úlceras em 17% e candidíase em 5% dos pacientes. Ainda

obtiveram como resultado que entre os microrganismos encontrados na boca dos pacientes estão a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Stenotrophomas maltophilia*, *Candida albicans*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Candidatropicalis*, *Staphylococcus ssp*, *Corynebacterium sp.*, *Escherichia coli* e *Streptococcus pneumoniae*. Sendo que 70% das bactérias pesquisadas foram encontradas apenas no biofilme dental.

As periodontopatias são conhecidas atualmente como doenças infectocontagiosas e de natureza inflamatória decorrente da interação entre a placa bacteriana e os tecidos periodontais, que causa uma série de respostas vasculares e celulares. O início e progressão da doença periodontal envolve diversos eventos inflamatórios e imunopatológicos onde fatores modificadores locais e sistêmicos participam ativamente, estando entre elas, vários microrganismos gram-negativos (MORAIS et al., 2010). Estudos recentes demonstraram que a uma relação direta entre doenças periodontias, causadas principalmente pela presença de biofilme, e doenças respiratórias, evidenciando que as periodontopatias podem influenciar na progressão de infecções respiratórias (MORAIS et al., 2010; SOUZA et al., 2017).

Alotaibi et al., (2014) define a pneumonia hospitalar como infecção do parênquima pulmonar que ocorre depois de aproximadamente 48 horas de internação. Os principais microrganismos envolvidos nessa infecção são bastonetes Gram-negativos como *Acinetobacter spp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp* e *Proteus mirabilis* que invadem as vias aéreas inferiores (traqueia, pulmões, brônquios, bronquíolos e alvéolos). Tal infecção pode ser originada pela inalação de aerossóis contaminados ou por disseminação hematogênica originada de um foco à distância, muitas vezes, da cavidade oral (MORAIS et al., 2010; SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA, 2001).

A pneumonia nosocomial é a complicação mais comum que ocorre entre os pacientes internados em UTIs (SOH et al., 2012), sendo responsável por altas taxas de mortalidade em pacientes de todas as idades. Estima-se que a pneumonia nosocomial englobe 10% a 15% das infecções hospitalares, sendo que de 20% a 50% dos pacientes acometidos por este tipo de pneumonia vem a óbito (SANNAPIECO, 2002; ANVISA, 2011).

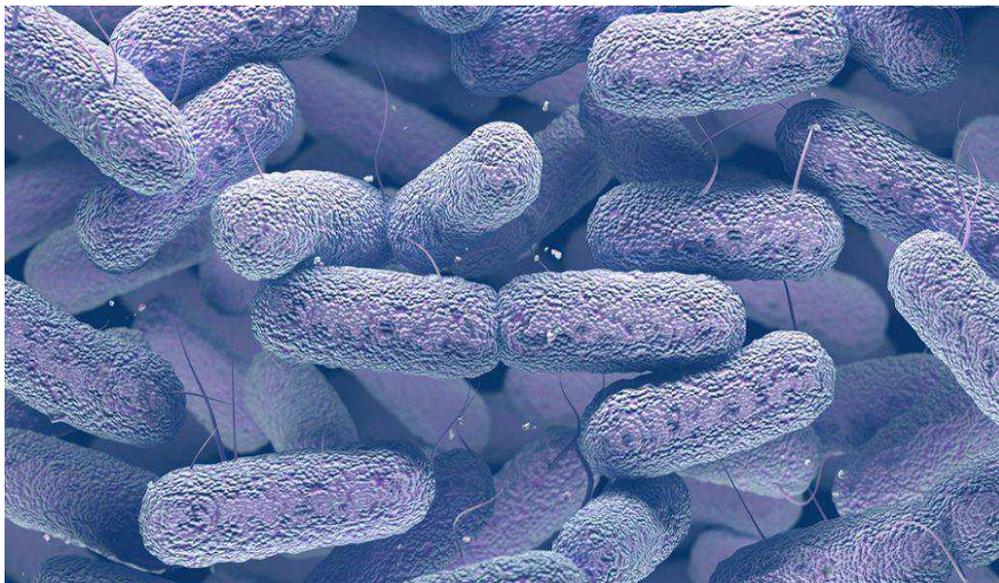
Ainda que a higiene oral seja uma prática indispensável para os pacientes hospitalizados, sua execução por parte dos enfermeiros em UTIs pode ser prejudicada por vários motivos. Entre os diversos fatores que podem estar relacionados ao risco de desenvolvimento da pneumonia nosocomial, Batista et al. (2015) e Padovani et al. (2012) citam a dificuldade de deglutição e a higiene oral inadequada como os principais.

Aloatabi et al. (2014), avaliou o impacto das diretrizes de higiene bucal na assistência bucal prestada a pacientes ventilados mecanicamente por enfermeiros da UTI. Participaram do estudo 215 enfermeiros e os hábitos de higiene oral praticados em seus pacientes foram catalogados através de questionários auto aplicados. Como resultados, observou-se que em quase 65% dos pacientes entubados foram encontrados patógenos da mucosa oral e biofilme dentário responsável pela pneumonia nosocomial e que os pacientes que receberam higienização oral pelo enfermeiro tiveram pontuações em práticas de higiene oral, traduzidas como menor quantidade de biofilme e inflamação gengival mais baixas que os que não recebiam a higienização. Observou-se também que os pacientes que recebiam a higienização bucal tinham menos chances de desenvolvimento de pneumonia nosocomial. Tal estudo concluiu que a implantação e aplicação de diretrizes de higiene oral em UTIs podem contribuir para a redução da morbimortalidade causada por pneumonia associada à ventilação mecânica.

2.3 Klebsiella pneumoniae

A *Klebsiella pneumoniae* é uma bactéria gram-negativa, pertencente à família das *Enterobacteriaceae*, encapsulada, que cresce frequentemente em meio aeróbio, com forma de bastão, não esporulado e não móvel, cujo tamanho pode variar de 0,3 a 1 μ de diâmetro e 0,6 a 6 μ de comprimento (MARTÍNEZ et al., 2004). (IMAGEM 2)

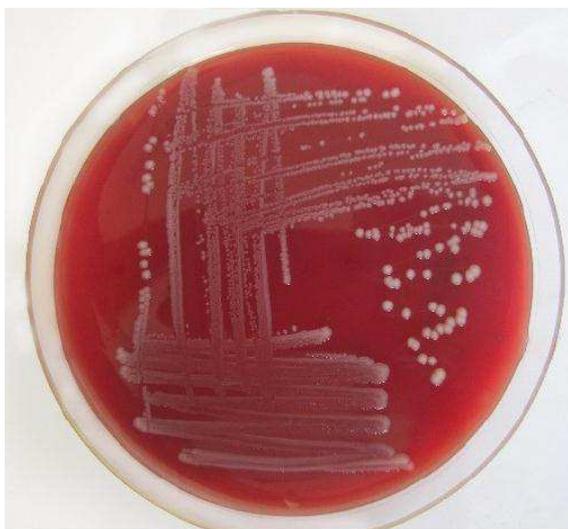
Imagem 2: Constituição microscópica da *Klebsiella pneumoniae*.



Fonte: TRIVEDI, Mahendra et al. Antibioqram typing and biochemical characterization of *Klebsiella pneumoniae* after biofield treatment. 2015.

Quando são cultivadas em meio de cultura, forma colônias grandes e gomosas. Tais colônias são rosadas, com aparência luminosa e de consistência mucoide, quando inoculado no ágar MacConkey (MARTÍNEZ et al., 2004) (IMAGEM 3).

Imagem 3: *Klebsiella pneumoniae* no meio de cultura ágar MacConkey



Fonte: https://www.researchgate.net/figure/Klebsiella-pneumoniae-showing-non-hemolytic-grey-white-mucoid-colonies-on-sheep-blood_fig1_271203099.

Entre as características bioquímicas que permitem a sua identificação, podem ser citados a fermentação da glicose, metabolização da lactose, reação de oxidase negativa, nitrato reduzido, citrato, indol e ornitina negativos, lisina e tríplex açúcar ferro (TSI) positivo com produção de gás, utilização do citrato como fonte de carbono e também a capacidade de hidrolizar a uréia, apresentando gás ou não (KONEMAN et al., 2008; GRUNDMANN et al., 2010).

Sua patogenicidade, segundo Davies et al. (2016), pode ser associada a diversos fatores de virulência como sua cápsula de polissacarídeo, que protege o microrganismo da morte no soro e que lhe confere um fator de virulência; exopolissacarídeos associados à hiperviscosidade, lipopolissacarídeos; as adesinas, que auxiliam na sua fixação às mucosas das células epiteliais do trato urogenital, respiratório e intestinal para causar o processo infeccioso; sistemas de aquisição de ferro; e outros fatores que interferem na ligação do sistema complemento à bactéria e que, portanto, impedem a eliminação da bactéria mediada pelo sistema complemento.

A *Klebsiella pneumoniae* produz uma enzima chamada *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC), que possui a capacidade de inativar um grande número de agentes antimicrobianos e é atualmente dita como a principal causadora de certas infecções devido à resistência que confere aos medicamentos (ANVISA, 2011). Por se localizar no plasmídeo da

célula bacteriana, o grupo KPC possui um alto potencial de disseminação, sendo mais frequente em bactérias *Klebsiella pneumoniae* por essa bactéria ter uma grande capacidade de acumular e transferir genes que dão a ela resistência microbiana, o que dificulta o controle de epidemias proporcionando a elevação das taxas de mortalidade (ANVISA, 2011).

Oliveira (2010) relata que os principais sinais e sintomas característicos da infecção por *Klebsiella* são: febre ou hipotermia, taquicardia, agravamento do quadro respiratório e nos casos mais sérios, hipotensão, inchaço e até falência de múltiplos órgãos. O mesmo autor ainda revela que, em relação ao sítio de infecção a bactéria produtora de KPC pode causar pneumonia associada à ventilação mecânica que envolve a destruição necrótica dos espaços alveolares, infecção urinária, infecção de corrente sanguínea, infecção de partes moles que tenham sido lesadas e outros tipos de infecção.

Vários métodos bioquímicos são utilizados para detecção das infecções causadas pela *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*. O meio de CHROMagar KPC é um meio cromogênico seletivo destinado à detecção de bactérias gram-negativas do tipo *Klebsiella pneumoniae* produtoras da enzima Carbapenemase. Outro método eficiente de detecção de cepas de KPC se dá através do teste de reação em cadeia da polimerase (PCR), amplamente utilizado para o sequenciamento de genes e no diagnóstico de doenças hereditárias e infecciosas. (ERRECALDE et al., 2012). Outros métodos relatados na literatura por Bradford et al. (2004) e Anderson et al. (2007) para detecção da enzima KPC são a focalização isoelétrica, disco-difusão, E-test e teste de Hodge modificado.

Devido ao difícil tratamento, o principal método de controle e combate das infecções por *Klebsiella pneumoniae* se dá através da implantação de medidas profiláticas. Estudos tem relatado que pacientes internados em hospitais tem uma maior probabilidade de infecção pela KCP, uma das bactérias causadoras da pneumonia nosocomial, sendo que tal risco é de 10 a 20 vezes maior em pacientes internados nas UTIs (COTRIM; ROCHA; FERREIRA, 2012). Tal fato pode ser explicado pela utilização de grandes quantidades de antibióticos por tempo prolongado, higienização oral inadequada, uso de dispositivos invasivos como cateter e sonda ou situações que favoreçam o estabelecimento da infecção (MARCHAIM, et al., 2008). Assim, torna-se imprescindível a antissepsia do ambiente, dos materiais utilizados, uma correta higienização oral e lavagem das mãos para que se possa conter e deter a disseminação da infecção (COTRIM; ROCHA; FERREIRA, 2012).

2.4 Potencial antimicrobiano dos óleos essenciais e utilização na odontologia

As plantas que apresentam potencial terapêutico utilizadas no cuidado da saúde tradicional compreendem uma importante fonte de novos compostos biologicamente ativos. Estima-se que atualmente existem entre 350.000 a 550.000 espécies de plantas no mundo das quais, a grande maioria não tem estudos químicos, analíticos e farmacológicos apesar de que muitas destas sejam utilizadas de forma empírica na medicina popular, muitas vezes, sem respaldo científico que comprove sua segurança e eficácia (SIMÕES et al., 2001; CARVALHO et al., 2007).

Carvalho et al., (2007) menciona que aproximadamente 48% dos medicamentos atualmente utilizados na terapêutica derivam-se direta ou indiretamente de produtos de origem vegetal, sobretudo a partir de plantas medicinais. Tal fato, fortalece a capacidade de desenvolver novos medicamentos a partir de plantas medicinais e seus derivados que tragam a mesma eficácia, segurança e biocompatibilidade (CRAGG et al., 1999; MONTANARI, 1995; SAMUELSSON et al., 2017) assim como motivam os estudos com plantas e seus derivados, visando seu emprego como fonte de recursos terapêuticos e como um imenso provedor de biomoléculas (FOGLIO et al., 2006).

As plantas podem sintetizar cerca de 200.000 metabólitos secundários podendo ser denominados também de fitoquímicos. Dentro desses metabólitos secundários, os compostos aromáticos compõem um importante grupo e engloba principalmente os terpenóides, fenilpropanóides, indol e compostos sulfurados (SHARMA et al., 2013).

Dentre eles, os óleos essenciais, conhecidos também como óleos voláteis, óleos etéreos ou essências estão presentes nas plantas como produto natural, derivados do metabolismo secundário das plantas e que contêm compostos aromáticos voláteis, estando envolvidos no seu mecanismo de defesa (SIMÕES et al., 2001). Segundo a International Standart Organization (ISO), os óleos essenciais são definidos como produtos obtidos de parte de plantas – flores, botões, folhas, caule, raiz, sementes, frutas, rizomas – ou da planta como um todo através de destilação por arraste de vapor, sendo combinações complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, líquidas e odoríferas (PEREIRA, 2006), podendo a sua quantidade, qualidade e composição ser influenciados por diversos fatores, segundo Andrade et al. (2014) e Simões et al. (2001), entre eles: a época do ano, período do dia, temperatura, radiação UV, estágio de desenvolvimento e idade da planta, disponibilidade de água, nutrientes do solo, altitude, composição atmosférica e danos a tecidos causados por herbívoros ou por agentes patogênicos além da parte da planta utilizada.

Os óleos essenciais podem existir sob a forma de hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, aminas, entre outros. Todavia, sua complexidade na composição química dos óleos essenciais, as substâncias de natureza terpênica (mono-, sequi- e diterpenos) são os constituintes majoritários. Os demais compostos dividem-se em fenilpropanóides, ácidos gordos e ésteres (SIMÕES et al., 2001; BASER, 2003).

O potencial farmacológico e as propriedades organolépticas dos óleos essenciais, se devem, geralmente, à presença de terpenos, destacando os mono e os sesquiterpenos e de fenilpropanóides e pela presença de compostos voláteis (OLIVEIRA, 2012). Os óleos essenciais são largamente empregados na indústria farmacêutica, cosmética, alimentícia e agrônômica por suas propriedades observadas na natureza, dentre as quais pode-se citar sua ação antibacteriana, atividades antifúngica e inseticida. (BAKKALI et al., 2008).

Tanto na medicina popular quanto em pesquisas científicas, várias atividades terapêuticas provenientes da utilização de óleos essenciais ou seus derivados são conhecidas. Dentre estas, pode-se citar: ação carminativa, antiespasmódica, estimulante sobre secreções do aparelho digestivo, cardiovascular, irritante tópica ou revulsiva, secretolítica, sobre o sistema nervoso central (SNC), analgésica local, anti-inflamatória, antisséptica, inseticida, entre outras (SIMÕES et al., 2001; JUNIOR et al., 2014).

Os compostos presentes nos óleos essenciais, combinados ou não com outros constituintes presentes em menores quantidades, são responsáveis pelas atividades antimicrobianas do óleo ainda que a sua composição química possa ser alterada por aspectos bióticos e abióticos. De acordo com Kalemba et al. (2003), a atividade antimicrobiana conferida pelos óleos essenciais pode se dar por três maneiras: danos na dupla camada fosfolipídica da parede celular da bactéria, pelo aumento da permeabilidade e perda dos constituintes celulares, e por modificação de diversos sistemas enzimáticos como os envolvidos na produção ATP e síntese de componentes estruturais ou eliminação do DNA. Eles também podem atuar mutuamente em diversos locais da célula microbiana, ocasionando prejuízo de elementos celulares, degradação da estrutura da membrana plasmática e apoptose (BARBOSA et al., 2009; BURT, 2004; SACCHETTI et al., 2004; SARTORATTO et al., 2004).

Em seu estudo intitulado “Efeito Antibacteriano de Óleos Essenciais sobre Bactérias Formadoras do Biofilme Dentário”, Alves et al. (2011) analisou o potencial bacteriano *in vitro* dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus*, *Eugenia uniflora* Linn e *Mentha piperita* sobre bactérias cariogênicas. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos essenciais foi determinada pela técnica da microdiluição e os microrganismos estudados foram *Streptococcus mutans*, *S. salivarius* e *S. mitis*. Utilizou-se placa com 96 orifícios, onde foram inseridos em

cada um 10 µg/ml do inóculo (108 UFC/ml), 100 µg/ml de caldo Brain Heart Infusion duplamente concentrado e 100 µL dos óleos essenciais em concentrações que variaram de 5 a 0,039 mg/ml. Como controle positivo foi utilizada Clorexidina a 60 µg/ml. Ainda foram realizados os controles de crescimento bacteriano e de esterilidade do meio de cultura utilizado. A leitura foi feita após 24 horas pelo método visual, sendo observada a formação ou não de aglomerados de células (“botão”) no fundo da cavidade da placa. Os resultados obtidos demonstraram que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* inibiu visivelmente o crescimento bacteriano na concentração de 5 mg/ml-1 sobre as três bactérias; O óleo essencial de *Eugenia uniflora* Linn mostrou CIM de 0,625 mg/ml e 3,75 mg/ml sobre *S. mitis* e *S. salivarius*, respectivamente. O óleo essencial de *Mentha piperita* exibiu CIM de 0,625 mg/ml, 0,312 mg/ml e 1,25 mg/ml sobre *S. mutans*, *S. mitis* e *S. salivarius*, respectivamente, comprovando que os óleos essenciais testados apresentaram atividade antibacteriana sobre as espécies cariogênicas ensaiadas.

2.5 *Lavandula* Híbrida Grosso

2.5.1 Gênero *Lavandula*

Aproximadamente 28 gêneros e 350 espécies fazem parte da família *Lamiaceae* (LORENZI E MATOS, 2008; SOUZA E LORENZI, 2008). Como características encontradas nas espécies dessa família pode-se citar o aspecto arbustivo ou herbáceo, conhecidas principalmente pelo seu odor, produtoras de óleos essenciais e outros compostos fitoquímicos como terpenos, flavonóides e taninos, além de serem utilizadas como peças ornamentais e decorativas (PLATT, 2009).

A lavanda, como é chamada popularmente, é uma planta que apresenta ampla distribuição ambiental, são cosmopolitas e mais frequentes nas regiões do Mediterrâneo e Oriente Médio, além disso, o gênero *Lavandula* apresenta aproximadamente 30 espécies diferentes e seu habitat natural é na Europa, África e Ásia (MENDES, 2007).

Segundo o Angiosperm Phylogeny Group (2009), a Lavanda pertence à Ordem *Lamiales*, Família *Lamiaceae* e ao gênero *Lavandula*. O gênero *Lavandula*, conta com mais de 30 espécies que abrangem seis seções: *Lavandula*, *Stoechas*, *Dentata*, *Pterostoechas*, *Chaetostachys*, e *Subnuda*. Possui ainda uma grande variedade de espécies híbridas que também são cultivadas no paisagismo ou de forma comercial, contudo a qualidade do óleo das espécies originais de *Lavandula* são superiores em comparação com suas variedades híbridas (BIAZI et al., 2009; PLATT, 2009).

As principais espécies utilizadas devido as suas propriedades medicinais são *L. angustifolia* (*L. officinalis*), *L. stoechas*, *L. latifolia* e *L. x intermedia* (*Lavandula* híbrida), sendo esta última um cruzamento estéril entre *L. latifolia* e *L. angustifolia* (BIAZI et al., 2009; PLATT, 2009).

Do gênero *Lavandula*, as espécies pertencentes e ela assemelham-se morfológicamente. São arbustos ou subarbustos eretos e aromáticos, exalam odores característicos, com caules majoritariamente lenhosos. As folhas são simples, inteiras, dentadas, pinadas ou bipinadas. Os tricomas das suas folhas são geralmente ramificados e conectados a glândulas (PLATT, 2009).

Ainda sobre suas características morfológicas, a inflorescência da planta é uma espiga terminal, simples ou ramificada, densa e compacta ou comprida e larga com pedúnculo retangular ou quadrado, além disso, podem apresentar-se na cor verde, vermelha, roxa ou branca. Apresentam também as brácteas férteis são opostas, alternas ou espiraladas, imbricadas ou dispostas em fileiras verticais. As brácteas estéreis formam uma grande pluma ou estrutura semelhante acima da espiga (PLATT, 2009); contendo normalmente flores com 5 pétalas (JUDD et al., 2002).

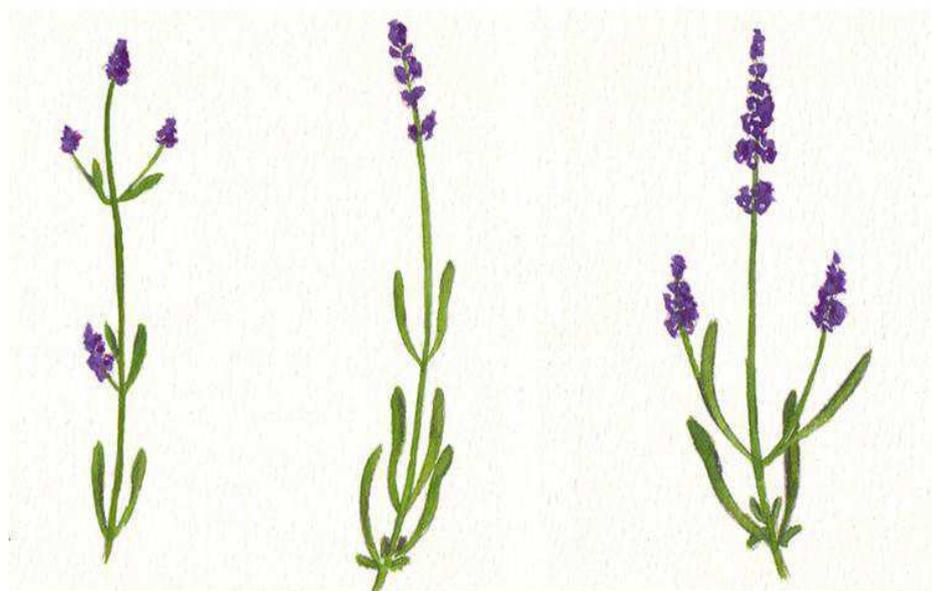
Suas folhas possuem coloração cinza quando jovens se tornando verde na fase adulta, medindo cerca de 5 a 6 cm de comprimento por 0,4 a 0,5 cm de largura, peculiarizando suas folhas. O fruto da lavanda é um aquênio e as sementes são pequenas, cor preta, lisas e exalam o mesmo perfume característico da planta. A lavanda tem altura entre 0,5 a 0,8 metros podendo ultrapassar 1 metro em algumas espécies. Vale salientar a influência da região e do clima sobre o desenvolvimento das plantas (MCGIMPSEY E POTTER., 1999).

2.5.2 *Lavandula* Híbrida Grosso

A *Lavandula* híbrida (*Lavandula x intermedia*), espécie derivada da união estéril dos gêneros *Lavandula angustifolia* e *Lavandula latifolia*, possui geralmente um porte maior do que suas derivações e apresenta um caule mais lenhoso (CORAZZA, 2002) (IMAGEM 4). É popularmente conhecida como lavandin, apresentando um odor fresco, doce, floral e mais herbal conferida pelas altas concentrações de linalol, acetato de linalina, cânfora, borneol, acetato de borneíla, cineol (MACHADO et al., 2013).

Da espécie *Lavandula* Híbrida as principais variedades são Abrialli, Grosso, Provence, Impress purple, e Super. Os principais constituintes do óleo da variedade Grosso são monoterpenos tais como linalol e acetato de linalilo, bem como cânfora e 1-8 cineol (PANIZZA E TOGNONI, 1992).

Imagem 4: *Lavandula latifolia* (1), *Lavandula angustifolia* (2), e sua união estéril *Lavandula híbrida* (3).



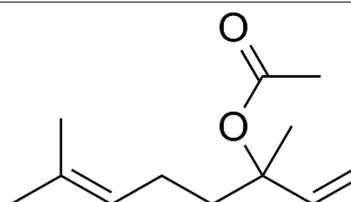
Fonte: <https://aromaterapiafamiliar.wordpress.com/2010/06/22/espliego-lavanda-y-lavandin/>

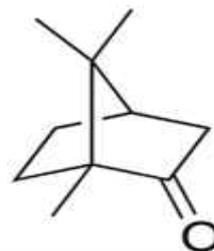
A composição dos óleos essenciais depende de vários fatores, como o genótipo da planta, o estágio de desenvolvimento dela e os fatores ambientais, interferindo positiva ou negativamente (RASOOLI, 2007). Os óleos essenciais extraídos de plantas de *Lavandula* Híbrida, contêm uma mistura de monoterpenos presentes em ambas as linhas, e são utilizados principalmente em produtos de cuidados pessoais e higiene incluindo sabonetes, shampoos, enxaguantes bucais e produtos industriais e limpeza doméstica (WORONUK et al. 2011).

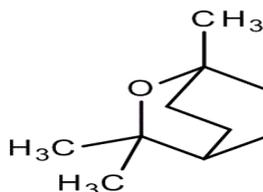
A *Lavandula* Híbrida é caracterizada por um conteúdo elevado de linalol, acetato de linalol, borneol, cânfora, β -pineno, α -pineno e 1,8-cineol. Entre estes, a cânfora, o linalol e o acetato de linalol são os principais determinantes da qualidade do óleo essencial. (UPSON et al., 2004; LIS-BALCHIN, 2002; MACHADO et al., 2013; RODRIGUEZ FLORES et al., 2014). (TABELA 1)

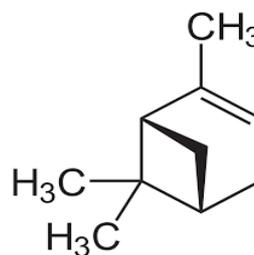
Tabela 1: Principais fitoconstituintes da *Lavandula* Híbrida

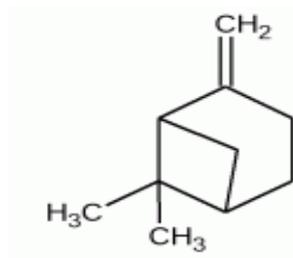
Linalol

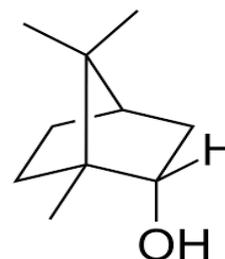


Canfora

1-8 cineol

 α -pineno

 β -pineno

Borneol

Fonte: UPSON et al. 2004; LIS-BALCHIN 2002

É uma planta muito valorizada por seus óleos essenciais que são utilizados em vários produtos de cuidados pessoais, cosméticos, alimentos e medicamentos alternativos (UPSON et al., 2004). Embora alguns monoterpenos dominem esses óleos essenciais, sesquiterpenos também podem compreender uma pequena quantidade (<10%) do óleo dependendo da espécie (LIS-BALCHIN, 2002).

2.5.3 Potencial antimicrobiano da *Lavandula* Híbrida Grosso

Os óleos essenciais podem ter um papel importante como antimicrobianos, cumprindo também os crescentes interesses industriais pela sua aplicação como bioconservantes e embora a composição química e a atividade antioxidante do gênero *Lavandula* tenha sido investigada (ALIZADEH e AGHAEI 2016; PRUSINOWSKA et al., 2016), há menos dados disponíveis sobre sua atividade antimicrobiana, particularmente sobre aplicação sobre patógenos (TARDUGNO et al., 2018).

Jianu et al. (2013) em seu trabalho, procurou investigar as propriedades antimicrobianas de óleos essenciais isolados de lavanda (*L.angustifolia* Miller) e de lavandin (*Lavandula x intermedia*), assim como determinar as suas composições químicas. Os óleos foram isolados utilizando destilação a vapor por inflorescências, e posteriormente analisadas por cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas (CG-EM). O método utilizado para avaliar a atividade antimicrobiana foi o Kirby-Bauer, no qual foi detectado ação bactericida dos dois óleos essenciais isolados sobre os microorganismos *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, enquanto que o *Streptococcus pyogenes* não se sensibilizou na presença de nenhum dos dois óleos essenciais. Com isso, foi possível determinar que os óleos essenciais da *lavandula angustifolia* e da *lavandula x intermedia* se apresentaram com efetiva atividade bactericida mesmo isolados, na ausência do linalol ou do acetato de linalina, demonstrando que a ação antibacteriana das duas plantas medicinais é devida aos seus diferentes compostos químicos.

Rodriguez Flores et al., (2014) buscou caracterizar os componentes bioquímicos dos óleos essenciais de *Lavandula* híbrida (variedades Grosso e Provence), Louro e Alecrim assim como testar sua atividade antimicrobiana contra o *Mycobacterium smegmatis* e *Escherichia coli*. Para a caracterização de seus compostos foi realizado o utilizando uma biblioteca comercial de espectrometria de massa e o potencial antimicrobiano foi analisado quanto à suscetibilidade das bactérias testadas a esses óleos essenciais pelo método de difusão em ágar. Os resultados obtidos acerca dos componentes bioquímicos das espécies de *Lavandula* Híbrida demonstraram que seus principais componentes foram o 1,8-cineol, cis- e trans- β -ocimeno, terpinen-4-ol, cânfora, borneol, linalol e acetato de linalila encontrados tanto na variedade Provence quanto Grosso, sendo que a variedade Grosso apresentou uma maior quantidade de Linalol e de acetato de Linalina enquanto a variedade Provence apresentou uma maior porcentagem de cânfora e de 1-8-cineol. Sobre sua atividade antimicrobiana foi relatado que todos os óleos estudados tiveram um bom potencial antimicrobiano. Entretanto, a variedade

Grosso da *Lavadula* híbrida obteve melhores resultados quando comparado com a Provence para os dois microrganismos testados.

3 REFERÊNCIAS

AAS, J. A.; PASTER, B. J.; STOKES, L. N.; OLSEN, I.; DEWHIRST, F. E. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. **Journal of clinical microbiology**, v. 43, n. 11, p. 5721-5732, 2005.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F. de; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

ALIZADEH, A.; AGHAEI, Z. Essential oil constituents, phenolic content and antioxidant activity of *Lavandula stricta* Delile growing wild in southern Iran. **Natural product research**, v. 30, n. 19, p. 2253-2257, 2016.

ALOTAIBI, A. K.; ALSHAYIQI, M.; RAMALINGAM, S. Does the presence of oral care guidelines affect oral care delivery by intensive care unit nurses? A survey of Saudi intensive care unit nurses. **American journal of infection control**, v. 42, n. 8, p. 921-922, 2012.

ALVES, L. A.; DE ALMEIDA FREIRES, I.; CASTRO, R. D. Efeito antibacteriano de óleos essenciais sobre bactérias formadoras do biofilme dentário. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 14, n. 2, p. 57-62, 2011.

ANDERSON, K. F.; LONSWAY, D. R.; RASHEED, J. K.; BIDDLE, J.; et al. Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in Enterobacteriaceae. **Journal of clinical microbiology**, v. 45, n. 8, p. 2723-2725, 2007.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. Pediatria: Prevenção e controle de infecção hospitalar/ Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BADUY, G. A. Perspectivas para o emprego de plantas medicinais como recurso terapêutico em saúde bucal. 2013.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BARBOSA, L. N.; RALL, V. L. M.; FERNANDES, A. A. H.; USHIMARU, P. I.; DA SILVA PROBST, I.; FERNANDES JR, A. Essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria in minced meat. **Foodborne pathogens and disease**, v. 6, n. 6, p. 725-728, 2009.

BAŞER, K.H. C. New trends in the utilization of medicinal and aromatic plants. In: **III WOCMAP Congress on Medicinal and Aromatic Plants-Volume 2: Conservation, Cultivation and Sustainable Use of Medicinal and 676**. 2003. p. 11-23.

BATISTA, Simone Alves et al. Alterações orais em pacientes internados em unidades de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 71, n. 2, p. 156, 2015.

BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. Plantas Aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009. 160 p.

BOHNER, L. O. M. Ação do enxaguatório bucal a base de Casearia Sylvestris e Clorexidina 0, 12% na cor e rugosidade superficial do esmalte dental submetido ao clareamento caseiro e bebida alimentícia ácida. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2013.

BRADFORD, P. A. et al. Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenem-hydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 β -lactamases in New York City. **Clinical infectious diseases**, v. 39, n. 1, p. 55-60, 2002.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International journal of food microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2002.

CARVALHO, A. C. B. et al. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, v. 5, n. 11, p. 26-32, 2007.

CASTRO, S. L. “In vivo” Study efficacy of anti septics on microaerobic microorganisms of the oral cavity. **Rev Dent**. Vol 1, pag 1-9, 2001.

CHASE, M. W. et al. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.

COPPADORO, A.; BITTNER, E.; BERRA, L. Novel preventive strategies for ventilator-associated pneumonia. **Critical Care**, v. 16, n. 2, p. 210, 2012.

CORAZZA, S. **Aromacologia: uma ciência de muitos cheiros**. Senac, 2002.

COTRIM, É. R.; ROCHA, R. D. R.; FERREIRA, M. F. R. *Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemase–KPC em Enterobacteriaceae: o desafio das bactérias multirresistentes. **Revista do Centro Universitário Newton Paiva**, v. 5, n. 1, 2012.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Discovery and development of antineoplastic agents from natural sources. **Cancer investigation**, v. 17, n. 2, p. 153-163, 1999.

CRUZ, M. K. da; MORAIS, T. M. N. de; TREVISANI, D. M. Clinical assessment of the oral cavity of patients hospitalized in an intensive care unit of an emergency hospital. **Revista Brasileira de terapia intensiva**, v. 26, n. 4, p. 379-383, 2012.

CULLER, H. F.; MOTA, C. M.; ABE, C. M.; et al. Atypical enteropathogenic Escherichia coli strains form biofilm on abiotic surfaces regardless of their adherence pattern on cultured epithelial cells. **BioMed research international**, v. 2014, 2012.

DAVIES, Y. M.; CUNHA, M. P. V.; OLIVEIRA, M. G. X.; et al. Virulence and antimicrobial resistance of Klebsiella pneumoniae isolated from passerine and psittacine birds. **Avian Pathology**, v. 45, n. 2, p. 194-201, 2016.

DE ANDRADE, D. P.; PALLOS, D.; FORTE, L. F. D. B. P.; RICARDO, L. H. A doxiciclina como adjuvante no tratamento da periodontite. **IJD. International Journal of Dentistry**, v. 8, n. 4, 2010.

DEWHIRST, F. E.; CHEN, T.; IZARD, J.; et al. The human oral microbiome. **Journal of bacteriology**, v. 192, n. 19, p. 5002-5017, 2010.

ERRECALDE, L.; COGUT, S.; ERBÍN, M.; et al. CHROMagar KPC. Comparación con el método propuesto por los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, EE. UU.) para el estudio de portación rectal y evaluación de falsos positivos. **Revista argentina de microbiología**, v. 44, n. 2, p. 89-93, 2012.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. D. O.; RODRIGUES, R. A. F. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. **Construindo a história dos produtos naturais**, v. 7, p. 1-8, 2006.

FRIKECHE, J.; COUTEAU, C.; ROUSSAKIS, C.; COIFFARD, L. J. Research on the immunosuppressive activity of ingredients contained in sunscreens. **Archives of dermatological research**, v. 307, n. 3, p. 211-218, 2015.

GANDOLFO, M. C.; PESSOLE, T.; MENDES, G.; ALBARA, M. F.; FONTANA, A.; FREISLEBEN, E. V.; NARDI, A.. Uso dos colutórios em Odontologia. **Ação Odonto**, n. 2, 2018.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 374, 2007.

GRUNDMANN, H.; LIVERMORE, D. M.; GISKE, C. G.; CANTON, R.; et al. Carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in Europe: conclusions from a meeting of national experts. **Eurosurveillance**, 2010.

HOFFMANN, C. H. . Dentifrícios em periodontia. **Monografia. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis**, 2008.

HORTENSE, S. R.; DA SILVA CARVALHO, É.; DE CARVALHO, F. S.; DA SILVA, R. P. R.; DE MAGALHÃES BASTOS, J. R.; DA SILVA BASTOS, R. Uso da clorexidina como agente preventivo e terapêutico na odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 22, n. 2, p. 178-184, 2017.

JONES, H.; NEWTON, J. T.; BOWER, E. J. A survey of the oral care practices of intensive care nurses. **Intensive and Critical Care Nursing**, v. 20, n. 2, p. 69-76, 2002.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. Plant systematics. A phylogenetic approach. **Sinauer Associates, Sunderland, Mass., USA**, v. 464, p. 3-4, 1999.

JÚNIOR, A. F.; DA SILVA, G. S.; BARBOSA, L. N.; ALVES, F. C.; ANDRADE, B. F.; ALBANO, M.; DI STASI, L. C. Medicinal plants from the Brazilian savanna with antibacterial properties. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 4, n. 1, p. 1, 2012.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. (2003). Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Curr. Med. Chemist.* 10: 813-829.

K MAURYA, A.; SINGH, M.; DUBEY, V.; SRIVASTAVA, S.; LUQMAN, S.; U BAWANKULE, D. . α -(-)-bisabolol reduces pro-inflammatory cytokine production and ameliorates skin inflammation. **Current pharmaceutical biotechnology**, v. 15, n. 2, p. 173-181, 2012.

KOLENBRANDER, P. E.; EGLAND, P. G.; DIAZ, P. I.; PALMER JR, R. J. Genome–genome interactions: bacterial communities in initial dental plaque. **Trends in microbiology**, v. 13, n. 1, p. 11-15, 2005.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. Koneman. Diagnostico Microbiologico/Microbiological diagnosis: Texto Y Atlas En Color/Text and Color Atlas. **Ed. Médica Panamericana**, 2008.

LEITES, A. C. B. R.; PINTO, M. B.; SOUSA, E. R. Aspectos microbiológicos da cárie dental. **Salusvita**, v. 25, n. 2, p. 239-52, 2006.

LIS-BALCHIN, M.; HART, S. Studies on the mode of action of the essential oil of Lavender *Lavandula angustifolia* P. Miller. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 13, n. 6, p. 540-542, 1999.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 244p.

LOTUFO, R. F. M.; HAAS, A. N.; RODRIGUES, A. S.; PANNUTI, C. M.; et al. Tratamento antimicrobiano em Periodontia—tratamento não cirúrgico. **Rev Periodontia**, v. 15, n. 4, p. 101-16, 2005.

MACHADO, M. P.; CIOTTA, M. N.; DESCHAMPS, C.; ZANETTE, F.; CÔCCO, L. C.; BIASI, L. A. In vitro propagation and chemical characterization of the essential oil of *Lavandula angustifolia* cultivated in Southern Brazil. **Ciência Rural**, v. 43, n. 2, p. 283-289, 2013.

MARCHAIM, D.; NAVON-VENEZIA, S.; SCHWABER, M. J.; CARMELI, Y. Isolation of imipenem-resistant *Enterobacter* species: emergence of KPC-2 carbapenemase, molecular characterization, epidemiology, and outcomes. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 52, n. 4, p. 1413-1418, 2008.

MARINHO, B. V. S.; ARAÚJO, A. C. S. O uso dos enxagatários bucais sobre a gengivite e o biofilme dental. **Int J Dent**, v. 6, n. 4, p. 124-31, 2007.

MARION, J.; PAVAN, K.; ARRUDA, M. E. B. F.; NAKASHIMA, L.; MORAIS, C. A. H. Chlorhexidine and its applications in Endodontics: A literature review. **Dental Press Endod**, v. 3, n. 3, p. 36-54, 2013.

MARTÍNEZ, J.; MARTÍNEZ, L.; ROSENBLUETH, M.; SILVA, J.; MARTÍNEZ-ROMERO, E. How are gene sequences analyses modifying bacterial taxonomy? The case of *Klebsiella*. **International Microbiology**, v. 7, n. 4, p. 261-268, 2002.

MARTINS, M. T. F. Odontologia hospitalar intensiva: Interdisciplinariedade e desafios. **Sociedade Mineira de Terapia Intensiva**, 2009.

MCGIMPSEY, J. A.; PORTER, N. G. **Lavender: A Growers' Guide for Commercial Production**. Publications Section, New Zealand Institute for Crop & Food Research Limited, 1999.

MENDES, M. D. S. Caracterização química e molecular de espécies das famílias Lamiaceae e Apiaceae da flora aromática de Portugal. 2007. 57 f. Tese (Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia) – Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa. 2007.

MONTANARI, C. A. Química medicinal: contribuição e perspectiva no desenvolvimento da farmacoterapia. **Química nova**, v. 18, n. 1, p. 56-64, 1995.

MORAIS, T. M. N. D.; SILVA, A. D.; AVI, A. L. R. D. O.; SOUZA, P. H. R. D.; KNOBEL, E.; CAMARGO, L. F. A. A importância da atuação odontológica em pacientes internados em unidade de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 18, n. 4, p. 412-417, 2010.

MOREIRA, A. C. A.; SANTOS, T. A. M. D.; CARNEIRO, M. C.; PORTO, M. R. Atividade de um enxaguatório bucal com clorexidina a 0, 12% sobre a microbiota sacarolítica da saliva. 2008.

MURBACH T. A. B. F., NUNES BARBOSA, L.; DA SILVA PROBST, I., & FERNANDES JÚNIOR, A. Antimicrobial activity of essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v. 26, n. 1, p. 34-40, 2012.

MUNIZ, K. G. G. Atividade antimicrobiana in vitro de enxaguatórios bucais sobre bactérias do biofilme dentário. Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. v. 20, 2012.

OLIVEIRA, L. C. B. S. D.; 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, n. 4, p. 428-433, 2010.

OLIVEIRA, M. B. Extração, Caracterização e avaliação da atividade larvacida do óleo essencial do Citrus Limon Linneo (limão) frente ao mosquito Aedes aegypti. [dissertação] São Luis: Universidade Federal do Maranhão; 2013.

OLIVEIRA, M. S.; BORGES, A. H.; MATTOS, F. Z.; SEMENOFF, T. A. D.; et al. Evaluation of different methods for removing oral biofilm in patients admitted to the intensive care unit. **Journal of international oral health: JIOH**, v. 6, n. 3, p. 61, 2012.

PADOVANI, M. C. R. L.; SOUZA, S. A. B.; SANT'ANNA, G. R.; DE OLIVEIRA GUARÉ, R. Protocolo de cuidados bucais na unidade de tratamento intensivo (UTI) neonatal. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research**, 2012.

PALMER J. R.; ROBERT, J. Composition and development of oral bacterial communities. **Periodontology** 2000, v. 64, n. 1, p. 20-39, 2012.

PANIZZA, M.; TOGNONI, F. Micropropagation of lavandin (*Lavandula officinalis* Chaix× *Lavandula latifolia* Villars cv. Grosso). In: **High-Tech and Micropropagation III**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 295-305, 1992.

PEREIRA, F. D. O.; WANDERLEY, P. A.; VIANA, F. A. C.; LIMA, R. B. D.; SOUSA, F. B. D.; LIMA, E. D. O. Growth inhibition and morphological alterations of *Trichophyton rubrum* induced by essential oil from *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 233-242, 2011.

PEREIRA, A. de A. **Efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de bactérias e fungos**. 2006. Tese de Doutorado. dissertação] Lavras: Universidade Federal de Lavras.

PINA-VAZ, I.; BARROS, J.; NOITES, R.; VILLA-VIGIL, A.; PINTADO, M.; CARVALHO, M. F. Estratégias anti-microbianas na prevenção e tratamento da infecção oral. Universidade Católica Portuguesa. **Ciências da Saúde**. 2011.

PLATT, E. S. Lavender: How to grow and use the fragrant herb. **Stackpole books**, n. 2. ed. Mechanicsburg PA, p. 157, 2009

PRUSINOWSKA, R.; ŚMIGIELSKI, K.; STOBIECKA, A.; KUNICKA-STYCZYŃSKA, A.. Hydrolates from lavender (*Lavandula angustifolia*)—their chemical composition as well as aromatic, antimicrobial and antioxidant properties. **Natural product research**, v. 30, n. 4, p. 386-393, 2016.

RASOOLI, I. Food preservation—a biopreservative approach. **Food**, v. 1, n. 2, p. 111-136, 2007.

RODRIGUEZ FLORES, C.; PENNEC, A.; NUGIER-CHAUVIN, C.; DANIELLOU, R.; HERRERA-ESTRELLA, L.; CHAUVIN, A. L. . Chemical composition and antibacterial activity of essential oils extracted from plants cultivated in Mexico. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 58, n. 4, p. 452-455, 2012.

ROMEIRO, R. D. L.; MAJEWSKI, M.; MOLINA, F.; JUNQUEIRA, J. C.; OLIVEIRA, L.; JORGE, A. O. C. Aderência de *C. albicans*, *C. dubliniensis* e *C. glabrata* à superfície de implantes lisos e rugosos. **ImplantNews**, v. 6, n. 1, p. 33-37, 2009.

SACHDEV, M.; READY, D.; BREALEY, D.; RYU, J. H.; BERCADES, G., NAGLE, J.; et al. Changes in dental plaque following hospitalisation in a critical care unit: an observational study. **Critical Care**, v. 17, n. 5, p. R189, 2013.

SACCHETTI, G.; MEDICI, A.; MAIETTI, S.; RADICE, M.; MUZZOLI, M.; MANFREDINI, S.; et al. Composition and functional properties of the essential oil of Amazonian basil, *Ocimum micranthum* Willd., Labiatae in comparison with commercial essential oils. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3486-3491, 2002.

SAIGG, N. L.; SILVA, M. C. Efeitos da utilização do chá verde na saúde humana. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 7, n. 1, p. 69-89, 2009.

SAMUELSSON, G.; BOHLIN, L. **Drugs of natural origin: a treatise of pharmacognosy**. CRC Press Inc., 2017.

SANNAPIECO, F. A. Relação entre doença periodontal e doenças respiratórias. **Medicina Periodontal**. São Paulo: Santos, v. 8, p. 3-97, 2002.

SANTOS, N.; MARIANE, B.; LAGO, J.; SARTORELLI, P.; ROSA, W.; SOARES, M.; PASCON, R. Assessing the chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants—*Eremanthus erythropappus* (Asteraceae), *Plectranthus barbatus*, and *P. amboinicus* (Lamiaceae). **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 8440-8452, 2015.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, 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. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2002.

SHARMA, P. K.; SANGWAN, N. S.; BOSE, S. K.; SANGWAN, R. S. Biochemical characteristics of a novel vegetative tissue geraniol acetyltransferase from a monoterpene oil grass (Palmarosa, *Cymbopogon martinii* var. *Motia*) leaf. **Plant science**, v. 203, p. 63-73, 2013.

SILVA, A.; CRUZ, J.; SAMPAIO, F.; ARAÚJO, D. Detecção de estreptococos orais em biofilme dental de crianças cárie-ativas e livres de cárie. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 4, p. 648-651, 2008.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001.

SMITH, A. J.; JACKSON, M. S.; BAGG, J. The ecology of Staphylococcus species in the oral cavity. **Journal of medical microbiology**, v. 50, n. 11, p. 940-946, 2001.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMOLOGIA E TISIOLOGIA. Consenso brasileiro de pneumonias em indivíduos adultos imunocompetentes. **J Pneumol**, v. 27, n. Suppl 1, p. 1-40, 2001

SOH, K. L.; GHAZALI, S. S.; SOH, K. G.; RAMAN, R. A.; ABDULLAH, S. S. S.; ONG, S. L. Oral care practice for the ventilated patients in intensive care units: a pilot survey. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 6, n. 04, p. 333-339, 2012.

SONCINI JR, G.; FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Arquitetura e relevância de diversos biofilmes fortemente aderidos a uma superfície de poliéster úmida. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 1, p. 105-107, 2003.

SOUZA, L. C. D.; CARVALHO, A. V. D. S. Z.; CORRÊA, R. D. G. C. F.; LIBÉRIO, S. A.; LOPES, F. F. Association between pathogens from tracheal aspirate and oral biofilm of patients on mechanical ventilation. **Brazilian oral research**, v. 31, 2017.

SOUZA, V.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2008.

STOODLEY, P.; SAUER, K.; DAVIES, D. G.; COSTERTON, J. W. Biofilms as complex differentiated communities. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 187-209, 2002.

TAJKARIMI, M. M.; IBRAHIM, S. A.; CLIVER, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. **Food control**, v. 21, n. 9, p. 1199-1218, 2010.

TAN, M.; ZHOU, L.; QIN, M.; LI, D.; JIANG, W.; WANG, Y.; HAO, X. Chemical composition and antimicrobial activity of the flower oil of *Russowia sogdiana* (Bunge) B. Fedtsch.(Asteraceae) from China. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, n. 2, p. 197-200, 2007.

TARDUGNO, R.; SERIO, A.; PELLATI, F.; D'AMATO, S.; et al. Lavandula x intermedia and Lavandula angustifolia essential oils: phytochemical composition and antimicrobial activity against foodborne pathogens. **Natural product research**, p. 1-6, 2018.

TREMBLAY, Y. D. N.; HATHROUBI, S.; JACQUES, M. Les biofilms bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 78, n. 2, p. 110-116, 2012.

UPSON, T. M., GRAYER, R. J., GREENHAM, J. R., WILLIAMS, C. A., AL-GHAMDI, F., & CHEN, F. H. **The genus *lavandula***. Portland: Timber Press, 2002.

WORONUK, G.; DEMISSIE, Z.; RHEAULT, M.; MAHMOUD, S. Biosynthesis and therapeutic properties of Lavandula essential oil constituents. **Planta medica**, v. 77, n. 01, p. 7-15, 2011.

VASCONCELOS, T. Desenvolvimento de formulações contendo diferentes concentrações de digluconato de clorexidina e avaliação da estabilidade preliminar das formulações. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, v. 4, n. 2, p. 134-140, 2015.

VIOLANTE, I. M. P.; HAMERSKI, L.; GARCEZ, W. S.; BATISTA, A. L.; CHANG, M. R.; POTT, V. J.; GARCEZ, F. R. Antimicrobial activity of some medicinal plants from the cerrado of the central-western region of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 43, n. 4, p. 1302-1308, 2012.

4 ARTIGO

POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIADERENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lavandula* HÍBRIDA GROSSO CONTRA CEPAS DE *Klebsiella pneumoniae*

ANTIMICROBIAL AND NON-STICK POTENTIAL OF ESSENTIAL OIL OF *Lavandula* HYBRIDA GROSSO AGAINST COLONY OF *Klebsiella pneumoniae*

Elaine Roberta Leite de SOUZA¹; José Henrique de Araújo CRUZ¹; José Lucas Soares FERREIRA¹; Heloisa Mara Batista Fernandes de OLIVEIRA²; Abrahão Alves de OLIVEIRA FILHO³

¹ Graduandos em Odontologia pela Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, campus de Patos/PB.

² Farmacêutica Bioquímica do Hospital Universitário Ana Bezerra da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, campus de Santa Cruz/RN.

³ Professor Doutor do curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, campus de Patos/PB.

Estrada Patos-Teixeira, Jatobá, Patos-PB, CEP 58700-970, E-mail: abrahao.farm@gmail.com

RESUMO

Introdução: A utilização de produtos de origem vegetal na odontologia constitui uma alternativa na prevenção e combate de diversas patologias que acometem os seres humanos. A *Klebsiella pneumoniae* é uma bactéria gram-negativa que está intimamente relacionada com a pneumonia nosocomial e que possui a capacidade de intaiar um grande número de agentes antimicrobianos. A *Lavandula* Híbrida é uma espécie derivada da união da *Lavandula angustifolia* Miller com a *Lavandula latifolia* Linn. Essa espécie apresenta as variedades Abrialli, Grosso, Provence, Impress purple, e Super, sendo a variedade Grosso como a que mais demonstrou atividade antimicrobiana. **Objetivo** avaliar a atividade antibacteriana e antiaderente do óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso contra cepas de *K. pneumoniae*. **Metodologia:** Os ensaios foram realizados utilizando as técnicas de microdiluição em caldo em placas de 96 poços para determinação da CIM e CBM e técnica de tubos inclinados para determinação da CIMA ao vidro, na presença de 5% de sacarose. **Resultados:** obteve-se que o óleo essencial de *Lavandula* híbrida Grosso possui uma moderada atividade antibacteriana contra as cepas de *K. pneumoniae* visto pela $CIM_{50} = 1.024 \mu\text{g/ml}$, possuindo também um potencial bacteriostático. Quanto a sua atividade antiaderente, observou-se que a concentração do óleo capaz de inibir a adesão do microrganismo a parede do tudo foi de 1:32 enquanto que para o digluconato de clorexidina 0,12% foi de 1:8. **Conclusão:** a *Lavandula* Híbrida demonstra ser eficaz como agente antimicrobiano e antiaderente para o controle e prevenção da infecção por *Klebsiella pneumoniae*.

Palavras chave: Plantas Medicinais. Produtos com Ação Antimicrobiana. Aderência Bacteriana.

ABSTRACT

Introduction: The use of products of plant origin in dentistry is an alternative in the prevention and combat of several pathologies that accompany humans. *Klebsiella pneumoniae* is a gram-negative bacterium that is closely related to nosocomial pneumonia because it has the ability to inactivate a large number of antimicrobial agents. *Lavandula Híbrida*, also known as Lavandin is a species derived from the union of *Lavandula angustifolia* Miller with *Lavandula latifolia* Linn. This species presents the varieties Abrialli, Grosso, Provence, Impress purple, and Super. Among them, the species that most demonstrated antimicrobial potential was the Grosso variety. **Objective:** to evaluate the antibacterial and nonstick activity of *Lavandula Hybrid* Grosso essential oil against strains of *Klebsiella pneumoniae*. **Method:** The assays were carried out using broth microdilution techniques in 96-well plates for determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and sloped tube technique for the determination of Minimum Inhibitory Adherence Concentration (MICA) to the glass, in the presence of 5% sucrose. **Results:** It was obtained that the essential oil of *Lavandula hybrida* Grosso has a moderate antibacterial activity against the strains of *K. pneumoniae* seen by the MIC₅₀ equal to 1024 µg/ml, also possessing a bacteristatic potential. As to its anti-adherent activity, it was observed that the concentration of oil capable of inhibiting the adhesion of the microorganism to the wall of the whole was 1:32 whereas for the chlorhexidine digluconate 0,12% was 1:8. **Conclusion:** In accordance with the results of the present study, *Lavandula Hybrid* demonstrated to be effective as an antimicrobial and anti-adherent agent for the control and prevention of *Klebseilla pneumoniae* infection.

Keywords: Medicinal Plants. Products with Antimicrobial Action. Bacterial Adhesion.

INTRODUÇÃO

A cavidade bucal é hospedeira de diversos microrganismos, abrigando cerca de metade de toda a microflora existente no corpo humano o que inclui várias espécies de fungos, vírus e bactérias^{1,2,3,4}. A descamação fisiológica das superfícies corporais dificulta o acúmulo desordenado de microrganismos no corpo, porém, devido a presença de superfícies não descamativas na cavidade bucal, tal controle é possível apenas com a higienização oral regular, prevenindo as doenças que acometem a cavidade oral⁵.

O biofilme dental, chamado também de placa bacteriana compreende o principal fator relacionado com o surgimento de cárie dentária e doenças periodontais⁶. Sua formação se dá por intermédio de um processo ordenado e dinâmico que vão desde a formação da película adquirida, adesão microbiana inicial e maturação da placa bacteriana^{7,8,9,10,11}. Como métodos para o controle do biofilme pode-se citar a escovação mecânica e uso de colutórios, como o digluconato de clorexidina a 0,12%, entretanto, os efeitos colaterais advindos da utilização prolongada da clorexidina estimulam a busca por outros métodos químicos de controle do biofilme^{12,13,14}.

Oliveira et al. (2012)¹⁵ relata que patógenos envolvidos em infecções respiratórias não são comumente encontrados na microbiota bucal de indivíduos saudáveis, contudo pacientes hospitalizados estão predispostos à colonização do biofilme oral por esses microrganismos. Além disso, os componentes do biofilme podem prevenir a penetração de agentes antibióticos, tornando esses patógenos mais resistentes aos antimicrobianos, dificultando sua eliminação^{5,15,16}. Somado a isso, os pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) constantemente apresentam uma má higiene bucal, com aumento substancial do biofilme bucal e isso, associado ao uso constante de medicamentos capazes causar hipossalivação aumenta as chances de estabelecimento e manutenção desse biofilme¹⁷.

A pneumonia nosocomial, pneumonia hospitalar ou pneumonia associada a ventilação mecânica (PAVM) representa uma infecção no parênquima pulmonar nas vias aéreas inferiores, sendo diagnosticadas 48 horas após a internação do paciente, não estando presentes nem incubadas anteriormente à data de internação¹⁸. Entre os microrganismo associados ao desenvolvimento dessa infecção pode-se citar: *Acinetobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Esherihia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* e *Proteus mirabiis* sendo que tais organismos

foram achados tanto na microbiota oral quanto pulmonar em vários estudos, reforçando a correlação entre o biofilme bucal com o desenvolvimento de infecções respiratórias^{19, 20,18}.

A *Klebsiella pneumoniae* é uma bactéria gram-negativa, pertencente à família das *Enterobacteriaceae*, encapsulada, que cresce frequentemente em meio aeróbio, com forma de bastão, não esporulado e não móvel, cujo tamanho pode variar de 0,3 a 1 µ de diâmetro e 0,6 a 6µ de comprimento e que está intimamente relacionada com a pneumonia nosocomial. Por produzir a enzima *Klebsiella pneumoniae carbapenemase* (KPC), que possui a capacidade de inativar um grande número de agentes antimicrobianos, é atualmente dita como a principal causadora de certas infecções devido à resistência que confere aos medicamentos^{21,22,23}. Devido a isso, reforça-se a necessidade de estudos que busquem métodos alternativos para seu tratamento.

Saigg e Silva (2009)²⁴ fundamentam que a utilização de plantas medicinais, que são ricas em substâncias biologicamente ativas, é capaz de estimular reações metabólicas que contribuem para a prevenção e tratamento de diversas doenças. Os óleos essenciais, compostos derivados do metabolismo secundários das plantas assim como seus componentes majoritários (terpenos, flavonóides, taninos, etc), possuem diversas propriedades farmacológicas documentadas tais como as atividades antibacterianas, antifúngicas, antivirais, antiparasitárias, antitoxigênicas, antissépticas, anestésicas, anticancerígenas e antioxidantes tornando-os também importantes fontes de novos fármacos^{25,26,27,28}. Assim, o potencial antimicrobiano que os óleos essenciais e seus componentes apresentam tem despertado interesse por serem compostos, em sua maioria, com baixa toxicidade, boa eficácia e baixo custo^{29,30}.

A *Lavandula* Híbrida, também conhecida como Lavandin é uma espécie derivada da união da *Lavandula angustifolia* Miller com a *Lavandula latifolia* Linn. Essa espécie apresenta as variedades Abrialli, Grosso, Provence, Impress purple, e Super. Entre eles, a espécie que mais demonstrou potencial antimicrobiano foi a variedade Grosso. A *Lavandula* Híbrida, é caracterizada por um conteúdo elevado de linalol, acetato de linalol, borneol, cânfora, β-pineno, α-pineno e 1,8-cineol. Entre estes, a cânfora, o linalol e o acetato de linalol são os principais determinantes da qualidade do óleo essencial^{31,32,33,34}.

Apesar de não ser bem visto pela indústria de perfumes pelo seu elevado conteúdo de 1-8 cineol e de cânfora, o óleo essencial de *Lavandula* híbrida desperta interesse da

indústria farmacêutica por apresentar-se como um bom agente antimicrobiano visto em estudos contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Entretanto, a falta de estudos sobre seu potencial e seu mecanismo de ação, principalmente contra outros patógenos instiga a necessidade de se realizar mais pesquisas³⁵.

Sendo assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a atividade antibacteriana e antiaderente do óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* usando para isso a análise da sua Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA).

METODOLOGIA

2.1 Ensaio *in vitro*

2.1.1 Substâncias-teste

O óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso foi adquirido da Indústria Via Aroma® (Porto Alegre - RS). Para a realização dos ensaios farmacológicos, a substância foi solubilizada em DMSO e diluído em água destilada. A concentração de DMSO (dimetilsulfóxido) utilizada foi inferior a 0,1% v/v.

2.1.2 Espécies bacterianas e meio de cultura

Foram utilizadas as seguintes bactérias de origem clínica: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883, Kp 101, Kp 102, Kp 103, Kp 104 e Kp 105). Todas 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 antimicrobiana foi utilizado um inóculo bacteriano de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/ml padronizado de acordo com a turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland^{36,37}.

2.1.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima do óleo essencial foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo^{36; 37}. Foram utilizadas placas de 96 orifícios estéreis e com tampa. Em cada orifício da placa, foi adicionado 100 µL do meio líquido caldo Muller Hinton duplamente concentrado. Em seguida, 100 µL da emulsão do óleo na concentração

inicial de 2048 µg/ml (também duplamente concentrado), foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada em razão de dois, foram obtidas as concentrações de 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8 e 4 µg/ml, de modo que na primeira linha da placa encontra-se a maior concentração e na última, a menor concentração. Por fim, foi adicionado 10 µL do inóculo de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/ml das espécies bacterianas nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se a uma cepa de bactéria, especificamente.

Paralelamente, realizou-se o controle positivo com o antibacteriano cloranfenicol. Um controle de microorganismo foi realizado colocando-se nas cavidades 100 µL do mesmo caldo Mueller Hinton duplamente concentrado, 100 µL de água destilada estéril e 10 µL do inóculo de cada espécie. Para verificar a ausência de interferência nos resultados pelos solventes utilizados na preparação da emulsão, no caso o DMSO, foi feito um controle no qual foram colocados nas cavidades 100 µL do caldo duplamente concentrado, 100 µL de DMSO e 10µL da suspensão bacteriana. Um controle de esterilidade do meio também foi realizado, onde colocou-se 200 µL do caldo Mueller Hinton em um orifício sem a suspensão das bactérias.

As placas foram assepticamente fechadas e incubadas a 35°C por 24 horas para ser realizada a leitura. A CIM para óleo foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento bacteriano verificado nos orifícios quando comparado com o crescimento controle. Os experimentos foram realizados em duplicata.

2.1.4 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

A concentração bactericida mínima (CBM) do óleo também foi determinada para as cepas de bactérias. Após a leitura da CIM em 24 horas, alíquotas de 20 µL foram retiradas de cada poço da placa de microtitulação que não apresentaram crescimento bacteriano, e transferidas para poços de uma nova placa de microtitulação contendo 100 µL de caldo Muller Hinton, desprovidas de qualquer antimicrobiano. As placas inoculadas foram assepticamente fechadas e incubadas a 35 °C, e as CBMs foram registradas após 48 h. A CBM foi definida como a menor concentração do óleo essencial que resultou em inibição visível do crescimento do micro-organismo^{38,39}.

2.1.5 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 Gebara, Zardetto e Mayer (1996)⁴⁰, usando-se concentrações correspondentes do óleo essencial puro até a diluição 1:1024. A partir do crescimento bacteriano, a cepa de *Klebsiella pneumoniae* 102 foi cultivada a 37°C em caldo Mueller Hinton (DIFCO, Michigan, Estados Unidos), depois foram distribuídos 0,9 ml do subcultivo em tubos de ensaio e, em seguida, adicionado 0,1 ml da solução correspondente às diluições do óleo essencial. A incubação foi feita a 37°C por 24 horas com tubos inclinados a 30°. A leitura foi realizada através da observação visual da aderência da bactéria às paredes do tubo, após a agitação do mesmo. O ensaio foi realizado em duplicata. O mesmo procedimento foi realizado para o controle positivo, o digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard®, Colgate-Palmolive Company, Nova York, EUA). Foi considerada a CIMA a menor concentração do agente em contato com sacarose que impediu a aderência ao tubo de vidro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas tabelas 1 e 2 estão representados, respectivamente, a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de *Lavandula* híbrida grosso contra as cepas de *Klebsiella pneumoniae*. Com relação a esses resultados, observa-se que o valor de CIM₅₀ foi de 1.024 µg/ml e que não foi possível encontrar o valor de CBM pois os testes demonstraram valores acima de 1.024 µg/ml.

Tabela1 - Concentração inibitória mínima (CIM) em µg/ml do do Óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso contra diferentes cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

<i>Lavandula</i> Híbrida Grosso						
	<i>Kp</i> ATCC 13883	<i>Kp</i> 101	<i>Kp</i> 102	<i>Kp</i> 103	<i>Kp</i> 104	<i>Kp</i> 105
1.024µg/ml	-	+	+	+	+	-
512 µg/ml	-	-	+	-	+	-
256 µg/ml	-	-	-	-	-	-
128 µg/ml	-	-	-	-	-	-
64 µg/ml	-	-	-	-	-	-

Controle negativo	-	-	-	-	-	-
Controle positivo	+	+	+	+	+	+

Legenda: Autoria própria

(+) Inibição (-) Sem inibição

Tabela 2 - Concentração Bactericida Mínima (CBM) em µg/ml do Óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso contra diferentes cepas de *Klebsiella pneumoniae*

<i>Lavandula</i> Híbrida Grosso						
	<i>Kp</i> ATCC 13883	<i>Kp</i> 101	<i>Kp</i> 102	<i>Kp</i> 103	<i>Kp</i> 104	<i>Kp</i> 105
1.024 µg/ml	-	-	-	-	-	-
512 µg/ml	-	-	-	-	-	-

Autoria Própria.

Legenda:

(+) Inibição (-) Sem inibição

Os resultados encontrados acerca da atividade antiaderente do óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso contra as cepas *Klebsiella pneumoniae* encontram-se descritos nas tabelas 3, assim como sua comparação com o digluconato de clorexidina 0,12%. Foi observado que o óllrro essencial de *Lavandula* híbrida Grosso apresentou uma CIMA de 1:32, enquanto o digluconato de Clorexidina 0,12% foi de 1:8, ou seja, uma concentração 4 vezes menor que o principal antimicrobiano utilizado para tratamento de diversas afecções que acometem a cavidade oral.

Tabela 3 – Concentração Inibitória Mínima de Aderência em µg/ml do do Óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso e do digluconato de Clorexidina 0,12% contra diferentes cepas de *Klebsiella pneumoniae* 102.

***Lavandula* Híbrida Grosso**

Concentração em µg/ml	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
	-	-	-	-	-	-	+	+

Digluconato de clorexidina 0,12

Concentração em µg/ml	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
	-	-	-	-	+	+	+	+

Legenda:

Autoria própria

(-) Sem adesão a parede do tubo (+) Com adesão a parede do tubo

As plantas que apresentam potencial terapêutico utilizadas no cuidado da saúde tradicional compreendem uma importante fonte de novos compostos biologicamente ativos⁴¹. Carvalho et al. (2007)⁴² menciona que aproximadamente 48% dos medicamentos atualmente utilizados na terapêutica derivam-se direta ou indiretamente de produtos de origem vegetal, sobretudo a partir de plantas medicinais. Tal fato, fortalece a capacidade de desenvolver novos medicamentos a partir de plantas medicinais e seus derivados que tragam a mesma eficácia, segurança e biocompatibilidade^{43,44,45} assim como motivam os estudos com plantas e seus derivados, visando seu emprego como fonte de recursos terapêuticos e como um imenso provedor de biomoléculas⁴⁶.

As plantas podem sintetizar cerca de 200.000 metabólitos secundários podendo ser denominados também de fitoquímicos⁴⁷. Dentre eles, os óleos essenciais, conhecidos também como óleos voláteis, óleos etéreos ou essência estão presentes nas plantas como produto natural, derivados do metabolismo secundário das plantas e que contêm compostos aromáticos voláteis, estando envolvidos no seu mecanismo de defesa⁴¹.

Os óleos essenciais são largamente empregados na indústria farmacêutica, cosmética, alimentícia e agrônômica por suas propriedades observadas na natureza, dentre as quais pode-se citar sua ação antibacteriana, atividades antifúngica e inseticida⁴⁸. Entretanto, embora a composição química e a atividade antioxidante do gênero *Lavandula*

tenha sido investigada^{49,50}, há menos dados disponíveis sobre sua atividade antimicrobiana, particularmente sobre aplicação sobre patógenos³⁵.

De acordo com Sartoratto et al. (2004)⁵¹ para uma atividade antimicrobiana ser classificada como forte para óleos essenciais, estes devem possuir a CIM de até 500 µg/ml, moderada para CIM de 600 a 1500 µg/ml e fraca para CIM acima de 1500 µg/ml. Assim, os resultados encontrados no presente estudo demonstram que a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso possui uma moderada inibição frente as cepas de *Klebsiella pneumoniae* testadas observáveis pela CIM₅₀ de 1024 µg/ml.

Para um composto ser considerado bactericida ou bacteriostático de acordo com seu CBM, segundo Hafidh et al. (2011)⁵², esta deve ser, respectivamente, igual ou duas vezes maior que o CIM ou o CBM deve ser maior que duas vezes o CIM. Os resultados obtidos demonstram que o óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso apresenta um potencial bacteriostático frente as cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

Um estudo realizado por Martins (2018)⁵³ buscou determinar a atividade antimicrobiana dos óleos extraídos de *Lavandula dentata* Linn e de óleos essenciais comerciais de *Lavandula* híbrida e *Lavandula officinalis*, determinando-se a CIM e a CBM contra as cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e isolados clínicos do HC-UFTM, dentre eles, a *Klebsiella pneumoniae*. Como resultados obtidos acerca do potencial antimicrobiano da *Lavandula híbrida* contra as cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae* pode-se determinar que o óleo essencial demonstrou uma fraca inibição frente a cepa testada. Tal resultado distingue-se do encontrado no presente estudo visto que a *Lavandula* híbrida Grosso apresentou uma moderada atividade de inibição visto que com a concentração de 1.024 µg/ml foi possível inibir o crescimento de 4 das 6 cepas clínicas testadas.

O estudo realizado por Bajalan et al., (2017)⁵⁴ buscando analisar a composição química e a atividade antibacteriana de Lavandas híbridas cultivadas na região nordeste do Iran alguns microrganismos, entre eles a *K. pneumoniae* utilizando o método de disco-difusão. Os resultados demonstraram que os óleos essenciais testados apresentaram uma moderada atividade bacteriana contra *K. pneumoniae* e *E. coli*. Tais resultados entram em conformidade com os apresentados nesse estudo, onde também foi obtido uma atividade inibitória moderada da *L. híbrida* contra a *K. pneumoniae*. Os autores também

concluíram que o potencial antimicrobiano de um óleo essencial está intimamente relacionado a quantidade de compostos presentes, e que, no caso dos compostos testados no estudo, o 1-8 cineol configura-se como o principal.

Gandolfo et al. (2018)¹², Munis et al. (2014)¹⁴ e de Andrade et al. (2010)¹³ relatam que o método mais aceito para o controle do biofilme bucal compreende a sua remoção mecânica através da escovação dentária, entretanto, vários autores relatam que a utilização de agentes químicos que atuem como coadjuvantes para o controle do biofilme, como o digluconato de clorexidina 0,12% (forma mais utilizada na odontologia já que apresenta maior solubilidade à substância), são bons métodos complementares de assepsia.

A clorexidina consiste no agente antimicrobiano de origem sintética mais potente e estudado, apresentando uma ótima eficácia e utilizado como padrão ouro para testar a potência de outros agentes antimicrobianos⁵⁵. Dentre as propriedades apresentadas por essa substância, pode-se citar a substantividade, ou seja, a capacidade de permanecer no local de ação e ser liberado lentamente; eficácia como agente antimicrobiano; segurança, já que diversos estudos revelam uma baixa evidência de toxicidade sistêmica em seres humanos; e um amplo espectro de ação, sendo capaz de atuar tanto em microrganismos gram negativos quanto gram positivos^{56,15,57}.

Entretanto, os diversos efeitos colaterais causados pelo uso prolongado do Digluconato de Clorexidina 0,12% como a precipitação de cálculo dentário, a perda do paladar e o manchamento dentário estimulam a buscar por outros agentes antimicrobianos^{58,59,60}.

Castro (2001)⁶¹ acrescenta também que na presença de inconvenientes para realização de uma adequada higienização da cavidade oral, como a falta de motivação dos indivíduos ou em situações que o indivíduo apresente limitações locomotoras, como no caso de pacientes internados em UTIs, e tendo como objetivo primário controlar o biofilme dental é oportuno e essencial a associação de métodos químicos (colutórios) aos métodos mecânicos (escovação) para o controle da microbiota oral.

Em relação a sua atividade antiaderente, observou-se que o óleo essencial usado no presente estudo demonstrou uma melhor propriedade do que o digluconato de clorexidina 0,12%, visto pela menor concentração capaz de inibir a aderência de biofilme

ao tubo, sendo 1:32 para o óleo essencial de *Lavandula* híbrida Grosso e 1:8 para o digluconato de clorexidina 0,12%.

Um estudo realizado por Rajasekharan et al. (2016)⁶² buscou analisar o potencial antiaderente do extrato de *Arctium lappa* (raiz de bardana) e de um de seus componentes, o ácido clorogênico contra em isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae*. Como resultados, pode-se concluir que tanto o extrato quando o ácido obteve uma significativa atividade antiaderente contra as cepas de *K. pneumoniae*, demonstrando assim que o extrato de raiz de bardana e seu composto podem ser usados como método alternativo para o controle da presença de *K. pneumoniae* no biofilme. Tais resultados reforçam o pressuposto de que óleos essenciais podem ser utilizados como método alternativo para o controle do biofilme.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, observa-se um elevado potencial e eficácia como agente antimicrobiano e antiaderente do óleo essencial de *Lavandula* híbrida Grosso. Em especial sua atividade antiaderente desperta interesse por apresentar-se 4 vezes mais potente que o digluconato de clorexidina 0,12%, podendo desse modo ser utilizado como método alternativo de inibição da formação do biofilme. No entanto, existe a necessidade de se realizar mais estudos sobre o assunto que venham esclarecer os mecanismos de ação e ajudar a combater a resistência microbiana.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Federal de Campina Grande e à Liga Acadêmica de Fitoterapia, Bioquímica e Microbiologia Bucal - LAFBIM/ UACB / UFCG por toda a colaboração com esta pesquisa. Agradecimento especial ao Professor Doutor Abrahão Alves de Oliveira Filho por todo apoio e confiança durante a realização desta pesquisa.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- 1 Lotufo RFM, Haas NA, Rodrigues AS, Pannuti CM, Pustiglioni FE, Nogueira Filho GR, et al. Tratamento antimicrobiano em Periodontia–tratamento não cirúrgico. *Rev Periodontia* 2005;15(4):101-16.
- 2 Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J. Clin. Microbiol.* 2005;43(11):5721-5732.
- 3 Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, YU WH, et al. The human oral microbiome. *J. Bacteriol.* 2010;192(19):5002-5017.
- 4 Morais TMN, Silva A, Avi ARLO, Souza PHR, Knobel E, Camargo LFA. A importância da atuação odontológica em pacientes internados em unidade de terapia intensiva. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva* 2010;18(4):412-417.
- 5 Palmer JR, Robert J. Composition and development of oral bacterial communities. *Periodontology* 2000 2012;64(1):20-39.
- 6 Pina-Vaz I, Barros J, Noites R, Villa-Vigil A, Pintado M, Carvalho MF. Estratégias anti-microbianas na prevenção e tratamento da infecção oral. Universidade Católica Portuguesa. Ciências da Saúde. 2011.
- 7 Silva ACB, Cruz JS, Sampaio FC, Araújo DAM. Detecção de estreptococos orais em biofilme dental de crianças cárie-ativas e livres de cárie. *Brazilian Journal of Microbiology* 2008;39(4):648-651.
- 8 Leites ACBR, Pinto MB, Sousa ER. Aspectos microbiológicos da cárie dental. *Salusvita* 2006;25(2):239-52.
- 9 Soncini JRG, Franchetti SMM, Marconato JC. Arquitetura e relevância de diversos biofilmes fortemente aderidos a uma superfície de poliéster úmida. *Brazilian Journal of Microbiology* 2003;34(1):105-107.
- 10 Batista AS, Silva-Jr A, Ferreira MF, Agostini M, Torres RS. Alterações orais em pacientes internados em unidades de terapia intensiva. *Revi. Bras. Odontol.* 2015;71(2):156-9.
- 11 Padovani MCRL, Souza SAB, Sant’anna GR, Guaré RO. Protocolo de cuidados bucais na unidade de tratamento intensivo (UTI) neonatal. *Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde* 2012;14(1):71-80.
- 12 Gandolfo MC, Pessole T, Mendes G, Albara MF, Fontana, A, Freisleben EV. Uso dos colutórios em Odontologia. *Ação Odonto* 2018;2(1).
- 13 Andrade DP, Pallo D, Forte LFBP, Ricardo LH. A doxiciclina como adjuvante no tratamento da periodontite. *Internal Journal Dentistry, Recife*, 2009;8(4):202-210.

14 Muniz KGG. Atividade antimicrobiana in vitro de enxaguatórios bucais sobre bactérias do biofilme dentário. Campina Grande. Monografia [graduação em odontologia] Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. 2014.

15 Oliveira MS, Borges AH, Mattos FZ, Semenoff TADV, Segundo AS, Tonetto MR et al. Evaluation of different methods for removing oral biofilm in patients admitted to the intensive care unit. *J Int Oral Health* 2012;6(3):61-64.

16 Smith AJ, Jackson MS, Bagg J. The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. *Journal of medical microbiology* 2001;50(11):940-946.

17 Sachdev M, Ready D, Brealey D, Ryu JH, Bercades G, Nagle J, et al. Changes in dental plaque following hospitalisation in a critical care unit: an observational study. *Critical Care* 2013;17(5):189.

18 Alotaibi AK, Alshayiqi M, Ramalingam S. Does the presence of oral care guidelines affect oral care delivery by intensive care unit nurses? A survey of Saudi intensive care unit nurses. *American journal of infection control* 2012;42(8):921-922.

19 Coppadoro A, Bittner E, Berra L. Novel preventive strategies for ventilator-associated pneumonia. *Critical Care* 2012;16(2):210.

20 Cruz MK, Morais TMN, Trevisani DM. Clinical assessment of the oral cavity of patients hospitalized in an intensive care unit of an emergency hospital. *Revista Brasileira de terapia intensiva* 2012;26(4):379-383.

21 Martínez J, Martínez L, Rosenblueth M, Silva J, Martínez-Romero E. How are gene sequences analyses modifying bacterial taxonomy? The case of *Klebsiella*. *Int Microbiol* 2004;7(4):261-268.

22 Oliveira LCBS, Carneiro PPM, Fischer GR, Tinoco EMB. A presença de patógenos respiratórios no biofilme bucal de pacientes com pneumonia nosocomial. *RBTI*, 2007;19(4):428-433.

23 ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. *Pediatria: Prevenção e controle de infecção hospitalar/ Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011.*

24 Saigg NL, Silva MC. Efeitos da utilização do chá verde na saúde humana. *Universitas: Ciências da Saúde* 2009;7(1):69-89.

25 Santos NO, Mariane B, Lago JHG, Sartorelli P, Rosa W, Soares MG, et al. Assessing the chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants—*Eremanthus erythropappus* (Asteraceae), *Plectrantuns barbatus*, and *P. amboinicus* (Lamiaceae). *Molecules* 2015;20(5):8440-8452

- 26 K. Maurya A, Singh M, Dubey V, Srivastava S, Luqman S, U. Bawankule D. α -(-)-bisabolol reduces pro-inflammatory cytokine production and ameliorates skin inflammation. *Current pharmaceutical biotechnology* 2012;15(2):173-181.
- 27 Frikeche J, Couteau C, Roussakis C, Coiffard LJM. Research on the immunosuppressive activity of ingredients contained in sunscreens. *Archives of dermatological research* 2015;307(3):211-218.
- 28 Fernandes AJr, Albano M, Alves FCB, Andrade BFMT, Barbosa LN, Silva GS, Di Stasi LC. Medicinal plants from the Brazilian Savanna with antibacterial properties. *Euro J Med Plants* 2014;4(1):1-13.
- 29 Agra MF, Freitas PF, Barbosa-Filho JM. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 2007;17(1):114-140.
- 30 Baduy GA. *Perspectivas para o emprego de plantas medicinais como recurso terapêutico em saúde bucal*. Rio de Janeiro. Monografia [graduação em odontologia]. *Perspectivas para o emprego de plantas medicinais como recurso terapêutico em saúde bucal*. 2013.
- 31 Upson T. *The genus lavandula*. Portland: Timber Press, 2002.
- 32 Lis-Balchin M, Hart S. Studies on the mode of action of the essential oil of Lavender *Lavandula angustifolia* P. Miller. *Phytother. Res*, 1999;13(6):540-542.
- 33 Machado MP, Ciotta MN, Deschamps C, Zanette F, Côcco LC, Biasi LA. In vitro propagation and chemical characterization of the essential oil of *Lavandula angustifolia* cultivated in Southern Brazil. *Ciênc. Rural*, 2013;43(2):283-289.
- 34 Flores CR, Pennec A, Nugier-Chauvin C, Daniellou R, Herrera-Estrella L, Chauvin AL. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils extracted from plants cultivated in Mexico. *J. Mex. Chem. Soc.* 2014;58(4):452-455.
- 35 Tardugno R, Serio A, Pellati F, D'Amato S, López SC, Bellardi GM et al. *Lavandula x intermedia* and *Lavandula angustifolia* essential oils: phytochemical composition and antimicrobial activity against foodborne pathogens. *Natural product research*. 2018;1-6.
- 36 Cleeland R, Squires E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infections. 1st ed. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. New York: Willians & Wilkins. 1991;739-788.
- 37 Hadacek F, Greger H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. *Phytochemical Analysis*. 2000;11(3):137- 147.
- 38 Ncube NS, Afolayan AJ, Okoh AI. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology*. 2008;7(12):1797-1806

39 Guerra FQS, Mendes JM, Oliveira WA, Costa JGM; Coutinho HDM, Lima EO. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cinnamomum zeylanicum* blume essential oil on multi-drug resistant *Acinetobacter* spp. strains . *Revista de Biologia e Farmacia*. 201;8 (1):62-70.

40 Gebara ECE, Zardetto CGDC, Mayer MPA. Estudo in vitro da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. *Rev. Odontol. Univ. São Paulo* 1996;10(4):251-6.

41 Simões CMO. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001.

42 Carvalho NCB, Nunes DSG, Baratelli TG, Shuqair NSMSAQ, Nett EM. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. *T&C Amazônia* 2007; 5(11):26-32.

43 Cragg GM, Newman DJ. Discovery and development of antineoplastic agents from natural sources. *Cancer investigation* 1999;17(2):153-163.

44 Montanari CA. *Química medicinal: contribuição e perspectiva no desenvolvimento da farmacoterapia*. *Química nova* 1995;18(1):56-64.

45 Samuelsson G, Bohlin L. *Drugs of natural origin: a treatise of pharmacognosy*. London: CRC Press Inc; 2017.

46 Foglio MA, Queiroga CL, Sousa IMO, Rodrigues RAF. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. *MultiCiencia: Construindo a história dos produtos naturais* 2006;7:1-8.

47 Sharma PK, Sangwan NS, Bose SK, Sangwan RS. Biochemical characteristics of a novel vegetative tissue geraniol acetyltransferase from a monoterpene oil grass (*Palmarosa, Cymbopogon martinii* var. *Motia*) leaf. *Plant Science*. 2013;203(1):63-73.

48 Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils– a review. *Food and chemical toxicology* 2008;46(2):446-475.

49 Alizadeh A, Aghaee Z. Essential oil constituents, phenolic content and antioxidant activity of *Lavandula stricta* Delile growing wild in southern Iran. *Natural product research* 2016;30(19):2253-2257.

50 Prusinowska R, Śmigielski K, Stobiecka A, Kunicka-Styczyńska A. Hydrolates from lavender (*Lavandula angustifolia*)–their chemical composition as well as aromatic, antimicrobial and antioxidant properties. *Natural product research* 2016;30(4):386-393.

51 Sartoratto A, Machado A, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2004;35(4):275-280.

52 Hafidh R, Abdulmir L, Vern A, Bakar FA, Abas F, Jahanshiri F, et al. Inhibition of Growth of Highly Resistant Bacterial and Fungal Pathogens by a Natural Product. *The Open Microbiology Journal*. 2011;5(1):96-106.

53 Martins RP. Caracterização química e avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *Lavandula dentata* L. 76f. Dissertação (Mestrado em Inovação Tecnológica) - Programa de Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2018.

54 Bajalan I, Rouzbahani R, Pirbalouti AG, Maggi F. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Iranian *Lavandula × hybrida*. *Chemistry e Biodiversity* 2017;14(7):305-311.

55 Hortense SR, Carvalho ES, Carvalho FS, Silva RPR, Bastos JRM et al. Uso da clorexidina como agente preventivo e terapêutico na odontologia. *Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo* 2017;22(2):178-184.

56 Marion J, Pavan K, Arruda MEBF, Nakashima L, Morais CAH. Chlorhexidine and its applications in Endodontics: A literature review. *Dental Press Endod* 2013;3(3):36-54.

57 Vasconcelos T. Desenvolvimento de formulações contendo diferentes concentrações de digluconato de clorexidina e avaliação da estabilidade preliminar das formulações. *Acta Farmacêutica Portuguesa* 2015;4(2):134-140.

58 Bohner LOL. Ação do enxaguatório bucal a base de *Casearia Sylvestris* e Clorexidina 0, 12% na cor e rugosidade superficial do esmalte dental submetido ao clareamento caseiro e bebida alimentícia ácida. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2013.

59 Hoffmann CH. Dentifrícios em periodontia. Monografia. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2008.

60 Moreira ACA, Santos TAM, Carneiro MC, Porto MR. Atividade de um enxaguatório bucal com clorexidina a 0, 12% sobre a microbiota sacarolítica da saliva. *Ci. méd. biol., Salvador* 2008;7(3):266-272.

61 Castro SL. "In vivo" Study efficacy of anti septics on microaerobic microorganisms of the oral cavity. *Rev Dent*. 2001;1:1-9.

62 Rajasekharan SK, Ramesh S, Satish AS, Lee J. Antibiofilm and Anti- β -Lactamase Activities of Burdock Root Extract and Chlorogenic Acid against *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of microbiology and biotechnology* 2017;27(3):542-551.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A *Lavandula* híbrida apresenta diversos efeitos farmacológicos documentados, que vão desde sua atividade ansiolítica até a antimicrobiana. A *K. pneumoniae* apresenta-se como uma super bactéria, que tem alta resistência a agentes antimicrobiano devido aos seus mecanismos de defesa e a produção da enzima KPC. O presente trabalho demonstrou que os óleos essenciais podem ser utilizados como métodos alternativos para o tratamento de infecções de origem respiratória, como, por exemplo, o óleo essencial de *Lavandula* híbrida Grosso, que foi utilizado no estudo em questão.

Os resultados do presente estudo demonstraram que o óleo essencial de *Lavandula* híbrida Grosso possui uma moderada atividade inibitória visto pelos valores de 1.024 µg/ml e que possui atividade bacteriostática. Acerca da atividade antiaderente, os resultados obtidos são animadores, visto que a concentração do agente necessária para que houvesse a inibição da aderência do microrganismo foi quatro vezes menor que a concentração do principal agente antimicrobiano utilizado, o digluconato de clorexdina 0,12%.

Tais resultados demonstram a efetividade e eficácia de produtos de origem natural para a utilização como agentes antimicrobianos, entretanto, a falta de estudos, principalmente *in vivo*, demonstra a necessidade de se realizar mais pesquisas sobre o assunto que venham esclarecer os mecanismos de ação e ajudar a combater a resistência microbiana.

ANEXO

NORMAS DA REVISTA JOURNAL OF HEALTH SCIENCES

Diretrizes para Autores

INSTRUÇÕES AOS AUTORES – JOURNAL OF HEALTH SCIENCES

O Journal of Health Sciences é uma publicação trimestral. O recebimento de artigo para tramitação é feito com base na originalidade, significância e contribuição científica.

1 Procedimentos para Submissão de Artigos: Os artigos enviados devem ser originais, isto é, não terem sido publicados em outro periódico ou coletânea no país. O procedimento adotado para aceitação definitiva será o seguinte:

- **Primeira Etapa:** seleção dos artigos segundo critério de relevância e adequação às diretrizes editoriais;
- **Segunda Etapa:** parecer a ser elaborado por no mínimo dois consultores “ad hoc”, de forma cega, isto é, sem o conhecimento dos nomes por parte dos pareceristas e dos autores. No caso dos pareceres não serem conclusivos, ou divergentes, o artigo será enviado a novos pareceristas. Sendo que a aceitação final é de responsabilidade do Editor Geral e dos Editores Científicos.

1.1 Línguas: Serão aceitos trabalhos redigidos em inglês, português ou espanhol.

1.2 A submissão dos artigos devem ser no Portal de Periódicos Científicos da Kroton, pelo link: <http://pgsskroton.com.br/seer/>

2 Tipos de Colaborações Aceitas pela Revista: serão aceitos trabalhos originais que se enquadrem nas seguintes categorias:

2.1 Artigos Científicos: Apresentam, geralmente, estudos teóricos ou práticos referentes à pesquisa e desenvolvimento que atingiram resultados conclusivos significativos. As publicações de caráter científico devem conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês ou Espanhol e Inglês); Resumo e Palavras-chave; Abstract e Keywords; Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão; Agradecimentos (quando necessários); Menção de Conflito de Interesses; e

2.2 Artigos de Revisão: Apresentam um breve resumo de trabalhos existentes, seguidos de uma avaliação das novas ideias, métodos, resultados e conclusões, e bibliografia relacionando as publicações significativas sobre o assunto. Devem conter os seguintes tópicos: Título (Português ou Espanhol e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Keywords; Introdução; Desenvolvimento (incluir os procedimentos de busca e seleção dos artigos utilizados na revisão); Conclusão; Menção de Conflito de Interesses; e Referências.

2.3 Casos Clínicos: Apresentam a descrição de casos clínicos, seguido de avaliação dos procedimentos, métodos, resultados e conclusões, e uma bibliografia relacionando as publicações significativas sobre o assunto. Devem conter os seguintes tópicos: Título (Português ou Espanhol e Inglês); Resumo e Palavras-chave; Abstract e Keywords; Introdução; Relato e desenvolvimento do caso; Conclusão; Menção de Conflito de Interesses; e Referências.

3 Forma de Apresentação dos Artigos

3.1 Os artigos devem ser digitados em editor de texto Word no formato .doc, em espaço 1,5 linha, em fonte tipo Times New Roman, tamanho 12. A página deverá ser em formato A4, com formatação de margens (3 cm).

3.2 A apresentação dos trabalhos deve seguir a seguinte ordem:

3.2.1 Folha de rosto sem identificação dos autores contendo apenas:

- Título em português ou espanhol
- Título em inglês

3.2.2 Folha de rosto personalizada contendo:

- Título em português ou espanhol
- Título em inglês
- Nome de cada autor, seguido por afiliação institucional, titulação por ocasião da submissão do trabalho e e-mail de contato. Recomenda-se que o artigo tenha no máximo 6 (seis) autores. Caso esse número seja excedido, deve ser descrita a participação de cada um dos autores no trabalho.

3.2.3 Folha contendo **Resumo** em português ou espanhol (mínimo de 200 e máximo de 250 palavras), redigido em parágrafo único, espaço simples e alinhamento justificado; e **Palavras-chave** (mínimo 3 e máximo 5) de acordo com os Descritores de Ciência da Saúde (DeCS - <http://decs.bvs.br>). O resumo deve iniciar com a problematização, seguido dos objetivos, metodologia, resultados e finalização com a conclusão.

3.2.4 Folha contendo **Abstract** e **Keywords**. O **Abstract** deve obedecer às mesmas especificações para a versão em português, seguido de **Keywords**, compatíveis com as palavras-chave (DeCS - <http://decs.bvs.br>).

3.2.5 Texto de acordo com as especificações recomendadas para cada tipo de colaboração.

- As **citações bibliográficas** devem ser de acordo com as normas **Vancouver**, enumeradas em ordem crescente conforme forem citadas pela primeira vez no texto; e sobrescrito.
- **Tabelas**, com as respectivas legendas. As tabelas devem ser formatadas no sentido retrato e não (nunca) em paisagem. Devem ser numeradas na sequência que são citadas no texto. As legendas e o título devem ser autoexplicativa, e sempre conter a Fonte dos dados.
- **Gráficos** devem ser acompanhados dos parâmetros quantitativos utilizados em sua elaboração, na forma de tabela.

3.2.6 Referências no estilo **VANCOUVER**. Devem conter todos os dados necessários à identificação das obras, dispostas em ordem de aparecimento no texto.

A seguir, alguns modelos de referências dos principais tipos de documentos:

3.2.6.1 Artigos em periódicos

Os títulos dos periódicos devem ser abreviados conforme o estilo adotado no Índex Medicus/Medline/PubMed – <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html> para os títulos de periódicos nacionais e latino-americanos recomenda-se o site <http://portal.revistas.bvs.br>

1. Corley A, Spooner AJ, Barnett AG, Caruana LR, Hammond NE, Fraser JF. End-expiratory lung volume recovers more slowly after closed endotracheal suctioning than after open suctioning: a randomized crossover study. J Crit Care 2012;27(6):742-3 doi: 10.1016/j.jcrc.2012.08.019.

2. De Munck J, Shirai K, Yoshida Y, Inoue S, Van Landuyt K, Lambrechts P, *et al.* Effect of water storage on the bonding effectiveness of 6 adhesives to Class I cavity dentin. *Oper Dent* 2006;31(4):456-65.

3. Edmunds DH, Whittaker DK, Green RM. Suitability of human, bovine, equine, and ovine tooth enamel for studies of artificial bacterial carious lesions. *Caries Res* 1988;22(6):327-36. doi: 10.2341/05-07

3.2.6.2 Livros

1. McCabe JF, Walls A. *Applied dental materials*. 8th ed. ed. Oxford; Malden, MA: Blackwell Science; 1998.

2. Anusavice KJ, Phillips RWS. *Phillips' science of dental materials*. 11th ed. ed. St. Louis: Saunders; 2003.

3.2.6.3 Dissertações e teses

1. Nihi FM. Avaliação da evaporação de solventes a partir dos sistemas adesivos dentinários e de misturas experimentais. Londrina. Dissertação [Mestrado em Odontologia] - Universidade Norte do Paraná; 2006.

Todas as obras que têm DOI deve ter o código identificado na referência

3.3 Comitê de Ética

Em toda matéria relacionada com pesquisa humana e pesquisa animal, os autores devem incluir no corpo do artigo, o número do processo de aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa - CEP e/ou pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA, na qual a pesquisa foi realizada.

3.4 Conflito de Interesse

Os autores devem preencher e assinar o formulário de Conflito de Interesse.

Autorais

4.1 Artigos publicados no Journal of Health Sciences

Os direitos autorais dos artigos publicados pertencem ao Journal of Health Sciences. A reprodução total dos artigos deste periódico em outras publicações, ou para qualquer outra utilidade, está condicionada à autorização escrita do(s) Editor(es).

4.1.1 Todos os anexos devem ser submetidos com o artigo no Portal e anexados no item **4. Transferência de Documentos Suplementares.**

