

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

ANA BEATRIZ BOMFIM GOMES RIBEIRO

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIBACTERIANA E
ANTIADERENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eucalyptus*
globulus E *Eucalyptus citriodora* CONTRA CEPAS DE
*Pseudomonas aeruginosa***

PATOS – PB

2023

ANA BEATRIZ BOMFIM GOMES RIBEIRO

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIBACTERIANA E
ANTIADERENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eucalyptus*
globulus E *Eucalyptus citriodora* CONTRA CEPAS DE
*Pseudomonas aeruginosa***

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

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de
Oliveira Filho

Co-orientadora: Prof^ª. Dr.^a. Raline
Mendonça dos Anjos

PATOS – PB

2023

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

R586a

Ribeiro, Ana Beatriz Bomfim Gomes

Avaliação das atividades antibacteriana e antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. / Ana Beatriz Bomfim Gomes Ribeiro. – Patos, 2023.

39f.

Orientador: Abrahão Alves de Oliveira Filho.

Coorientadora: Raline Mendonça dos Anjos.

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

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

CDU 616.314:633.88

ANA BEATRIZ BOMFIM GOMES RIBEIRO

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIBACTERIANA E ANTIADERENTE DOS
ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eucalyptus globulus* E *Eucalyptus citriodora* CONTRA
CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa***

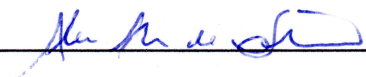
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Odontologia da
Universidade Federal de Campina Grande, como
parte dos requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira
Filho

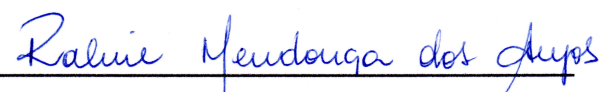
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Raline Mendonça dos
Anjos

Aprovado em: 14 / 09 / 23

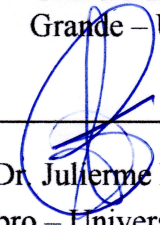
BANCA EXAMINADORA



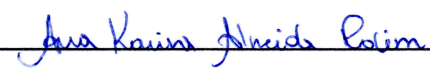
Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho
Orientador – Universidade Federal de Campina
Grande – UFCG



Prof^a. Dra. Raline Mendonça dos Anjos
Co-Orientadora – Universidade Federal de Campina
Grande – UFCG



Prof. Dr. Julienne Ferreira Rocha
1º membro – Universidade Federal de
Campina Grande – UFCG



Prof^a. Ma. Ana Karina Almeida Rolim
2º membro – Universidade Federal de
Campina Grande – UFCG

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por me permitir viver este sonho, o qual tanto pedi, e finalmente o concretizo. Agradeço por ser meu porto seguro nos momentos difíceis, e minha base nos momentos de alegria.

Agradeço à minha mãe, Neima Bonfim, por ser tudo na minha vida, por me apoiar, por se dedicar à mim, me instruir e me orientar, sobre caráter e bondade. Minha maior inspiração, espero um dia retribuir o mínimo do que recebi.

À minha família, agradeço por se manter junto à mim, apesar da distância, por me apoiar e me ajudar sempre que precisei. Agradeço a minha avó Elisabete, ao meu avô Chiquinho, minha tia Neide, meus primos Pedro, Ana Luisa e Lia, por serem sempre meu lar.

Ao meu pai, Antônio Carlos, agradeço por me ajudar sempre que pôde, por ser o alívio cômico em meio a loucura, por me apoiar e por se orgulhar tanto de mim.

Ao meu namorado, Viton Dyrk, por estar comigo durante toda essa jornada, por me ensinar, me apoiar, por ser meu amparo nos dias difíceis, meu incentivador e minha inspiração de determinação. Obrigada por acreditar em mim quando desanimava, por ser meu melhor amigo e meu companheiro de vida.

Agradeço à minha eterna dupla, Cecília Marinho, por ser minha amiga desde o início do curso, minha primeira vizinha, obrigada por dividir comigo as lutas diárias e tornar tudo mais leve. À Roberta Gomes, minha grata surpresa, agradeço por ter a oportunidade de compartilhar essa etapa da vida com você, obrigada por ser o ponto de equilíbrio do nosso trio. Com vocês o difícil foi muito mais fácil.

Obrigada aos meus amigos e meu grupo de conselheiros, André de Lima, Lucas Fonseca, Fabrício Rennan, Vinícius Grangeiro e Matheus Lira, por me acolherem, por estarem sempre comigo, e tornarem meus dias mais divertidos. À Vitória Cristina e Glêdiston Fernandes, obrigada por me inspirarem sobre bondade e resiliência, por todos os encontros e conversas, das mais rasas até as mais profundas, vocês são incríveis.

Agradeço a Lara Mayanne, pela amizade e parceria no meu último ano da graduação, obrigada por me ajudar e me auxiliar sempre que precisei. À Vinicius Rocha

e Edinha, obrigada por dividirem comigo todas as conversas e risadas nas clínicas. À Vanessa Jales, agradeço por integrar nosso quarteto, e com toda sua calma contribuir tanto para nossos atendimentos. À Érika Fernandes, por dividir comigo as loucuras e responsabilidades da vida adulta longe de casa.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Prof. Abrahão Alves, por me acolher e me permitir fazer parte da Liga Acadêmica de Fitoterapia, Bioquímica e Microbiologia (LAFBIM), por me ensinar e me orientar da melhor maneira que eu poderia imaginar. Obrigada por abrir tantas portas para mim durante a graduação, que com certeza se expandirão para além dela, obrigada por tornar todo processo mais leve. O senhor é um exemplo que irei levar para vida como pessoa e profissional. Obrigada!

Agradeço ao Prof. Julierme Ferreira, por me convidar a fazer parte da Liga Acadêmica de Cirurgia (LAC), e por todas as vezes que pegou na minha mão e me ensinou sobre cuidar dos meus pacientes. Obrigada por me ensinar mais sobre o universo da anatomia e cirurgia, e que a pessoa que eu opero é o amor da vida de alguém.

Obrigada à Profa. Raline Mendonça por me orientar e me acompanhar durante a LAFBIM com toda sua doçura, e por ser tão prestativa e atenciosa comigo. Agradeço à Profa. Ana Karina Rolim pela orientação em clínica, por ser tão solícita e gentil, e por me inspirar profissionalmente.

Agradeço à todos os demais professores que passaram na minha vida nessa graduação, cada um certamente teve sua devida importância para mim, e levarei cada um comigo junto com lições para além da vida profissional. Agradeço ainda a todos os funcionários da Universidade Federal de Campina Grande, por tornarem tudo isso possível, por sempre estarem dispostos a ajudar todos os alunos, professores e pacientes.

Obrigada à minha Turma XIX, que estive unida mesmo em meio à tantas dificuldades que passamos juntos, certamente foi a melhor turma em que eu poderia estar, obrigada por tudo. Agradeço a todos os colegas e amigos que estiveram comigo durante essa jornada.

RESUMO

O biofilme pode ser definido como um complexo ecossistema microbiológico sésil, formado por uma ou mais espécies de bactérias, fungos ou protozoários, isolados ou em combinação, embebido em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares. Dentre os microorganismos capazes de formar biofilme tem-se a *Pseudomonas aeruginosa*, bactéria gram-negativa com amplos fatores de virulência e elevada resistência à antimicrobianos, dificultando o tratamento de infecções acometidas por ela, sendo uma das principais responsáveis por infecções nosocomiais. Nesse sentido, diante de diversos estudos que demonstram sua eficácia, a fitoterapia e os óleos essenciais apresentam-se como promissoras alternativas terapêuticas frente à microorganismos multirresistentes. À vista disso, o objetivo da presente pesquisa foi avaliar as atividades antibacteriana e antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra a cepas clínicas de *P. aeruginosa*, e comparar os seus efeitos antibiofilme com digluconato de clorexidina a 0,12%. Como metodologia utilizou-se de experimentos em duplicata, sendo que para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos óleos foi empregada a técnica de microdiluição em caldo em placas de 96 poços. Concomitantemente, para a determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) usou-se da técnica de tubos de vidro inclinados na presença de 5% de sacarose, empregando proporções correspondentes ao óleo essencial puro até a diluição 1:1024, e seu controle positivo foi com digluconato de clorexidina a 0,12%. Os resultados obtidos indicaram que os óleos essenciais de *E. globulus* e *E. citriodora* variaram entre os efeitos forte e moderado diante das cepas de *P. aeruginosa* testadas, assim como entre ação bactericida e bacteriostática. Além disso, os óleos demonstraram efeito antiaderente eficaz e superior ao controle positivo, destacando-se o *E. globulus* como mais eficaz.

Palavras-chave: Fitoterapia; Odontologia; Microbiologia.

ABSTRACT

Biofilm can be defined as a complex sessile microbiological ecosystem formed by one or more species of bacteria, fungi or protozoa, isolated or in combination, embedded in a matrix of extracellular polymeric substances. Among the microorganisms capable of forming biofilm is *Pseudomonas aeruginosa*, a gram-negative bacterium with extensive virulence factors and high resistance to antimicrobials, making it difficult to treat infections caused by it, and it is one of the main causes of nosocomial infections. In this sense, in view of various studies demonstrating their efficacy, phytotherapy and essential oils are promising therapeutic alternatives to multi-resistant microorganisms. In view of this, the aim of this study was to evaluate the antibacterial and anti-adherent activities of the essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus citriodora* against clinical strains of *P. aeruginosa*, and to compare their antibiofilm effects with 0.12% chlorhexidine digluconate. Duplicate experiments were used to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the oils using the broth microdilution technique in 96-well plates. At the same time, the Minimum Adherence Inhibitory Concentration (MIC) was determined using the inclined glass tube technique in the presence of 5% sucrose, using proportions corresponding to the pure essential oil up to a dilution of 1:1024, and its positive control was 0.12% chlorhexidine digluconate. The results obtained indicated that the essential oils of *E. globulus* and *E. citriodora* varied between strong and moderate effects on the *P. aeruginosa* strains tested, as well as between bactericidal and bacteriostatic action. In addition, the oils showed an effective anti-adherent effect and were superior to the positive control, with *E. globulus* standing out as the most effective.

Keywords: Phytotherapy; Dentistry; Microbiology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estágios de desenvolvimento do biofilme.....	11
Figura 2 – Biofilme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
Figura 3 – Flor e frutos de <i>Eucalyptus globulus</i>	16
Figura 4 – Árvore de <i>Eucalyptus globulus</i>	17
Figura 5 – Flores e frutos de <i>Eucalyptus citriodora</i>	18
Figura 6 – Árvore de <i>Eucalyptus citriodora</i>	18

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	11
2.1 BIOFILME BACTERIANO.....	11
2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
2.3 FITOTERAPIA.....	14
2.4 <i>Eucalyptus globulus</i>	15
2.5 <i>Eucalyptus citriodora</i>	17
REFERÊNCIAS.....	19
3 ARTIGO.....	24
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	30
ANEXO A – NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA.....	31
ANEXO B – TEMPLATE DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA EJMED.....	35

1 INTRODUÇÃO

O biofilme pode ser definido como um complexo ecossistema microbiológico sésil, formado por uma ou mais espécies de bactérias, fungos ou protozoários, isolados ou em combinação (Kasnowski *et al.*, 2010; Meira, 2021). Estima-se que mais de 90% dos microorganismos vivem sob essa forma de vida, podendo colonizar quase que qualquer ambiente com condições favoráveis (Menoita *et al.*, 2012). As bactérias podem viver como células de vida livre (ou planctônicas) ou como células sésseis, também chamadas de biofilme, o qual indica o seu teor crônico de formação (Da Silva Trentin, Giordani e Macedo, 2013; Ribeiro, 2019).

Essa estrutura encontra-se embebida em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares, responsável pela morfologia, estrutura, coesão e integridade funcional do biofilme, no qual se adere a uma superfície biótica ou abiótica. É sabido que a água está presente em grande proporção na composição do biofilme, preenchendo até cerca de 97% da matriz, enquanto os microorganismos compõem em torno de 3% dessa organização (Da Silva *et al.*, 2020; Kasnowski *et al.*, 2010; Oliveira, Brugnetra e Piccoli, 2010).

O combate do biofilme pode suceder por meio da inibição de sua formação, ou do tratamento do biofilme já formado. A primeira ocorre através do bloqueio da adesão bacteriana a uma superfície ou por meio do rompimento da comunicação entre essas bactérias (*Quorum sensing*) pelo uso profilático de antibióticos e biocidas. Já o tratamento acontece mediante à remoção mecânica desse biofilme, o uso de antimicrobianos e a substituição dos dispositivos biomédicos, como cateteres e tubos endotraqueais (Boles e Horswill, 2011; Carvalho *et al.*, 2019; Castro, 2019; Frasnelli, Oliveira e Cancian, 2011).

Dentre os microorganismos capazes de formar biofilme, encontra-se a *Pseudomonas aeruginosa*, uma bactéria gram-negativa em forma de bacilo, com amplos fatores de virulência e intrinsecamente resistente a diversos antibacterianos. Essa espécie é encontrada principalmente em dispositivos biomédicos implantáveis, sendo uma das principais responsáveis por infecções nosocomiais. Estudos também detectaram a presença significativa de *P. aeruginosa* em biofilme subgingival de pacientes com periodontite e em canal endodôntico (Colombo *et al.*, 2013; Da Silva Trentin, Giordani e Macedo, 2013; Roca, 2014; Neves *et al.*, 2011; Spezzia, 2019; Vasconcellos *et al.*, 2021).

A *Pseudomonas aeruginosa* apresenta diversos mecanismos de resistência à

antibacterianos, tanto natural quanto adquirida, dentre elas, a produção de enzimas β -lactamases, as quais inativam drogas betalactâmicas como penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos (Álvarez *et al.*, 2005; Caixeta *et al.*, 2019; Mota, Oliveira e Souto, 2018; Santos, Nogueira e Mendonça, 2015). As infecções causadas por essa bactéria estão entre as mais temidas, devido à dificuldade de tratamento consequente da elevada resistência dessa espécie, apresentando assim, um desafio para as opções terapêuticas sintéticas (Nóbrega, Do Carmo Filho e Pereira, 2013).

Destarte, a fitoterapia tem se tornado uma promissora alternativa terapêutica para o tratamento de microorganismos multirresistentes, visto suas diversas vantagens como menor custo à população e aos serviços de saúde, grande disponibilidade de matéria-prima, boa aceitação popular, menor efeito colateral e melhor tolerância dos pacientes (Aleluia *et al.*, 2017; Almeida, 2017). Nesse sentido encontram-se os óleos essenciais, também chamados de óleos voláteis ou essências, que se originam do metabolismo secundário de plantas e apresentam-se como misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas (Nascimento e Prade, 2020; Sarto e Zanusso Junior, 2014).

Ademais, o eucalipto pode ser encontrado em todas as regiões da flora brasileira, sendo conhecidas cerca de 400 espécies, as quais podem ser aproveitadas desde o seu caule para extração de celulose, até suas folhas, onde são retirados seus óleos essenciais (Andrade, 2021; Estanislau *et al.*, 2001). Esses óleos podem ser divididos em três grupos substanciais, que se diferenciam de acordo com a finalidade: medicinal, industrial ou de perfumaria (Vitti e Brito, 2003).

A espécie *Eucalyptus globulus* é a principal produtora dos óleos com fins medicinais, sendo seu principal componente o monoterpeno cineol, bastante utilizado em produtos farmacêuticos como inalantes, saborizantes e aromatizantes para medicamentos e produtos de higiene bucal. Já o *Eucalyptus citriodora* é o mais explorado na indústria de perfumaria, com o constituinte predominante sendo o monoterpeno citronelal, utilizado para aromatizar produtos de limpeza (Azambuja, 2009; Azambuja, 2017; Vitti e Brito, 2003).

Desta maneira, tendo em vista o conhecimento sobre as propriedades dos óleos essenciais contra diversos microorganismos, este trabalho propõe-se avaliar a potencial atividade antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra a cepa de *Pseudomonas aeruginosa*.

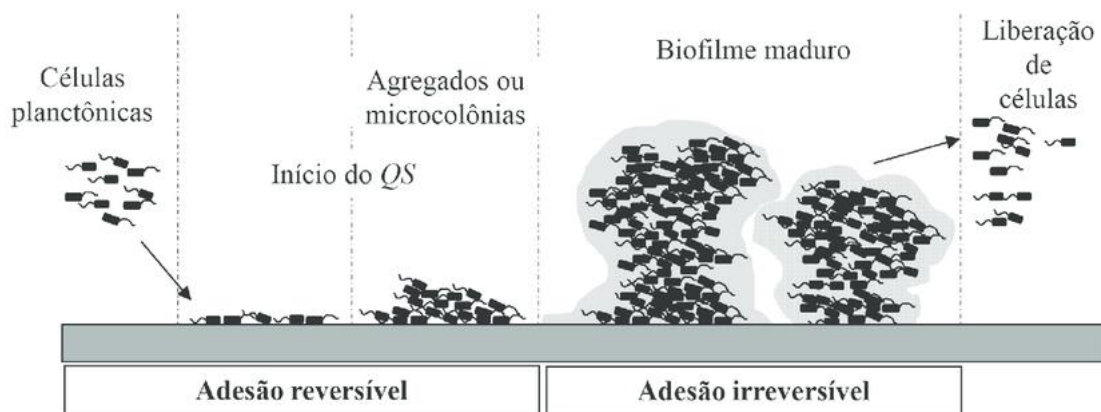
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Biofilme bacteriano

A adesão bacteriana é a primeira etapa da formação do biofilme (Figura 1), tratando-se de um processo complexo e dependente de diversos parâmetros relacionados ao microorganismo envolvido, ao sítio de adesão e ao microambiente de ambos como pH, temperatura e disponibilidade de nutrientes. A adesão primária é reversível e pode ocorrer de duas maneiras: por meio de interações físico-químicas não específicas entre bactérias e superfícies abióticas; ou através de interações moleculares mediadas por ligações específicas (receptor-ligante) em superfícies bióticas. Nessa fase os microorganismos estão fracamente aderidos à superfície, podendo ser facilmente removíveis (Caixeta *et al.*, 2019; Da Silva Trentin, Giordani e Macedo, 2013; Ribeiro, 2015).

Sem a desorganização desse biofilme, ocorre um aumento da formação dessa estrutura, onde é possível estabelecer a adesão secundária, irreversível. Os microorganismos produzem uma matriz extracelular polissacarídea ou proteica pela qual se aderem à superfície quando as bactérias planctônicas estão em elevado grau de agregação e se tornam sésseis, promovendo assim a maturação do biofilme. Os polissacarídeos extracelulares promovem fortes ligações entre as células e o meio, formando o biofilme propriamente dito e sua característica irreversível (Da Silva Trentin, Giordani e Macedo, 2013; Neves *et al.*, 2021; Venturini, 2017).

Figura 1: Estágios de desenvolvimento do biofilme



Fonte: **ResearchGate**. Disponível em: https://www.researchgate.net/figure/Figura-4-Estgios-do-desenvolvimento-dos-biofilmes-adesao-reversivel-com-a-formacao-de_fig4_260544548. Acesso em: 23 jan.

2023.

A estrutura tridimensional da matriz extracelular mantém as células do biofilme o mais próximo possível, o que permite a interação e comunicação entre elas. Dessa forma, promove a estabilidade mecânica e a proteção dos microorganismos que o compõe contra defesas imunológicas, cátions metálicos, oxidação, desidratação e alguns antimicrobianos, favorecendo a resistência dessa organização (Pedraza, 2016; Salamanca, 2017).

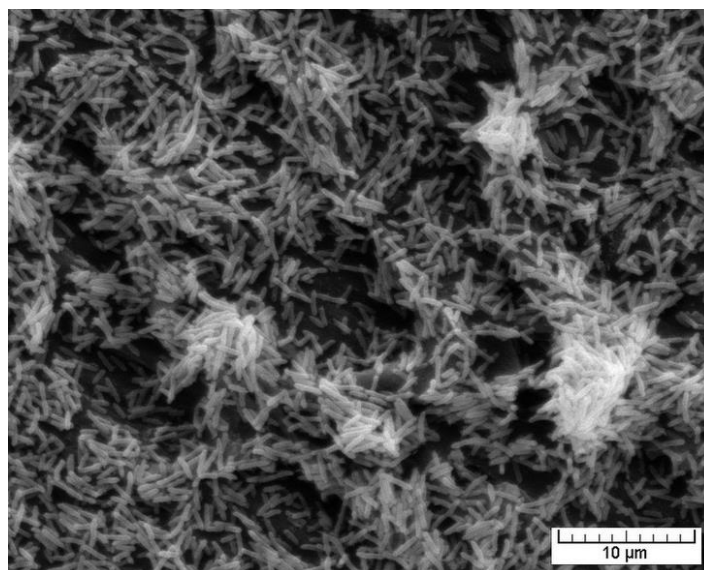
Nesse sentido, a resistência bacteriana do biofilme pode ocorrer por meio de diversos mecanismos, dentre eles a alteração dos canais proteicos inespecíficos, as porinas, influenciando na permeabilidade da matriz e dificultando a penetração de fármacos; a alteração da bomba de efluxo, que propicia a expulsão do antimicrobiano para o meio extracelular; e o mecanismo enzimático, capaz de neutralizar ou inibir os efeitos farmacológicos desses agentes. De tal modo, essas ferramentas apresentam-se como importantes fatores de patogenicidade (Da Silva Trentin, Giordani e Macedo, 2013; Pinto, 2016).

2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria gram-negativa, onipresente, móvel, oportunista e hidrofílica, sendo comumente encontrada em ambientes úmidos. Essa espécie é de vida livre e móvel devido a presença de um ou mais flagelos, possui forma de bacilo e mede aproximadamente de 0,5 a 1 µm de diâmetro e 1,5 a 5 µm de comprimento. Além disso, a maioria de suas cepas produz pigmentos fluorescentes capazes de retardar o crescimento de outras espécies, favorecendo assim, a sua colonização. Classifica-se no grupo de bactérias aeróbias facultativas e não fermentadoras, pois obtêm energia dos carboidratos a partir da sua oxidação, por fim, geralmente possuem baixa exigência nutricional e não são esporuladas, podendo sobreviver em condições extremas (Assunção, Pereira e Abreu, 2018; Dini, 2016; Paz-Zarza *et al.*, 2019; Roca, 2014).

Os aspectos morfológicos e metabólicos da *P. aeruginosa* associados à estrutura de biofilme (Figura 2) favorecem seus fatores de virulência e patogenicidade, assim como sua resistência. Dessa maneira, esse microorganismo se caracteriza como típico de infecções nosocomiais, sendo um dos principais agentes causadores dessas afecções no Brasil. Em razão da sua elevada resistência à antibacterianos adjunto a sua difícil erradicação, as infecções causadas por *P. aeruginosa* têm resultado em elevados índices de morbidade e mortalidade (Cárdenas *et al.*, 2017; Neves *et al.*, 2011; Silva, 2016).

Figura 2: Biofilme de *Pseudomonas aeruginosa*



Fonte: Bacteria in Photos. Disponível em: <http://www.bacteriainphotos.com/bacterial-biofilm.html>.

Acesso em 25 jan. 2023.

Nessa conjuntura, a prevalência de *P. aeruginosa* é relativamente baixa em indivíduos saudáveis, em alternativa, sua colonização é comum em pacientes hospitalizados e imunossuprimidos, conferindo sua característica de patógeno oportunista (Dini, 2016; Marconi, 2019; Rodrigues, 2016). A utilização de dispositivos biomédicos como cateteres, endoscópios, aparelhos de diálise, respiradores e tubos endotraqueais facilitam a colonização desses microorganismos, assim como a negligência de cuidados orais, visto que a saúde bucal possui implicações na saúde geral do paciente (Dini, 2016; Teixeira *et al.*, 2018).

Diversos estudos têm demonstrado aumento da prevalência de pneumonia nosocomial causado por bactérias gram-negativas multirresistentes como a *P. aeruginosa*, ocorrendo principalmente em UTI nos pacientes associados à respiradores bucais. Esse fato pode ser explicado principalmente pela inserção no ambiente úmido juntamente com a higienização deficiente desses equipamentos, o que auxilia a colonização desses microorganismos (Assunção, Pereira e Abreu, 2018; Da Silva, Kimura e Coimbra, 2012; Santi e Santos, 2016).

Naue *et al.* (2021) coletaram amostras de sangue, aspirado traqueal e urina de pacientes internados em uma UTI, onde entre esses materiais a maior prevalência de culturas positivas foi obtida do aspirado traqueal. Nesse utensílio a *Pseudomonas aeruginosa* foi a terceira mais prevalente, seguida da *Acinetobacter baumannii* e da *Staphylococcus aureus*, respectivamente. De acordo com os autores, a taxa de colonização da *P. aeruginosa* em pele e

mucosas de pacientes hospitalizados que fazem uso de antibióticos de amplo espectro, tratamento quimioterápico ou mecanismos artificiais de respiração pode ultrapassar 50% dessas regiões.

Outrossim, estudos de Souto, Silva-Boghossian e Colombo (2014) apontam que espécies não orais como a *P. aeruginosa* podem estar presentes na microbiota bucal, não sendo considerado um evento transitório, assim, a cavidade oral pode ser capaz de funcionar como um reservatório para diversos patógenos importantes. Adicionalmente, pôde-se observar uma frequência significativamente maior desse microorganismo em saliva e biofilme subgingival em pacientes com periodontite comparado com pacientes periodontalmente saudáveis.

Em contrapartida, em trabalhos de Colombo *et al.* (2013) não foi possível observar diferença na prevalência da quantidade de *P. aeruginosa* entre indivíduos com doença periodontal e indivíduos saudáveis, mas sim uma maior proporção dessa espécie em pacientes com periodontite. Ainda, apesar de ocorrer a presença de patógenos respiratórios no biofilme bucal de diversos pacientes internados em UTI, a relação da doença periodontal com a pneumonia nosocomial ainda é bastante controversa, não havendo ainda estudos conclusivos que a comprovem (Santi e Santos, 2016).

Destarte, o tratamento convencional contra essa espécie de bactéria pode se dá por meio de diversos fármacos, sendo o tratamento incipiente geralmente caracterizado pelo uso de antimicrobianos de amplo espectro, entretanto, esse método pode favorecer a obtenção e disseminação de cepas resistentes. Dentre os principais fármacos utilizado para o combate à *P. aeruginosa* encontram-se os antimicrobianos β -lactâmicos, penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos, entre outros. Contudo, as características morfológicas e metabólicas da *P. aeruginosa* associadas à estrutura de biofilme, dificultam a penetração e ação desses medicamentos, sendo considerados assim, microorganismos multirresistentes. Diante disso, torna-se necessário a descoberta de novas alternativas terapêuticas contra estas bactérias (Da Silva, Kimura e Coimbra, 2012; Dini, 2016).

2.3 Fitoterapia

À vista disso, com as dificuldades encontradas para o tratamento de infecções que envolvem a formação de biofilme, a fitoterapia se manifesta como uma alternativa

terapêutica, sendo caracterizada pela utilização de plantas medicinais e fitoterápicos em suas diversas formas farmacêuticas, entre elas os chás, extratos e óleos essenciais. Dessa forma, as investigações das propriedades biológicas de plantas medicinais têm crescido juntamente com a maior aceitação popular e médica (Queiroga, 2015; Urquhart *et al.*, 2020).

Nesse contexto, estudos realizados com óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) indicam sua ação anti-inflamatória, sendo empregado quando em processos agudos e pós-cirurgias odontológicas, assim como em tratamentos de alveolites. Ainda, tem-se a calêndula (*Calendula officinalis* L.), também conhecida popularmente com malmequer ou margarida dourada, a qual apresenta eficácia no tratamento para estomatites aftosas e após exodontias, devido sua capacidade antisséptica e hemostática, possibilitando uma melhor cicatrização (Bohneberger *et al.*, 2019). À vista disso, torna-se evidente a potencial aplicabilidade da fitoterapia no âmbito odontológico.

Com efeito, os óleos essenciais vêm sendo amplamente estudados e têm demonstrado grande potencial terapêutico, incluindo o efeito antimicrobiano sobre microorganismos patogênicos. A exemplo apresentam-se os óleos das espécies *Cinnamomum cassia* (canela) e *Melaleuca alternifolia* (melaleuca), os quais demonstraram atividades bacteriostática e antibacteriana em determinadas concentrações contra cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (De Oliveira *et al.*, 2018).

2.4 *Eucalyptus globulus*

O *Eucalyptus* é um gênero nativo da Austrália e pertence à família Myrtaceae, sendo uma das plantas mais cultivada no Brasil devido sua capacidade adaptativa aos mais diversos climas e solos, além de ser um importante recurso de madeira para produção de celulose. Nesse contexto, o *Eucalyptus globulus* (Figuras 3 e 4), conhecido popularmente como eucalipto-comum, é uma espécie com árvores de grande porte, com folhas perenes e lanceoladas cobertas por glândulas oleolíferas, além de flores que variam do branco ao amarelo, e frutos que crescem em forma de cápsulas (Holanda, 2022; Barbosa, 2018; Carrillo *et al.*, 2018).

Figura 3: Flor e frutos de *Eucalyptus globulus*



Fonte: **Morfologia de *Eucalyptus globulus***. Disponível em: <https://naturdata.com/especie/Eucalyptus-globulus/3652/0/>. Acesso em 26 jan. 2023.

O óleo essencial das folhas de *E. globulus* possui como constituinte marjoritário o monoterpeneo 1,8-cineol (eucaliptol), e tem comprovados efeitos terapêuticos, dentre eles as atividade antiviral, anti-inflamatória, analgésica, expectorante e antimicrobiana (Rodrigues, 2018; Rodrigues *et al.*, 2022)

Diversos trabalhos demonstram a eficácia do óleo essencial de *E. globulus* como potencial antibacteriano contra cepas de diferentes microorganismos, possuindo atividade superior a clorexidina frente a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* (Mota, Turrini e Poveda, 2015; Alves, Freires e Castro, 2010). Além disso, também apresentou atividade antifúngica sobre os patógenos *Penicillium sp.* e *Candida spp.* no controle do seu crescimento (Piatí, Schneider e Nozaki, 2011; Castro e Lima, 2010).

Figura 4: Árvore de *Eucalyptus globulus*



Fonte: *Eucalyptus globulus*. Disponível em: <https://maestrovirtuale.com/eucalyptus-globulus-caracteristicas-habitat-importancia-e-usos/>. Acesso em 26 jan. 2023.

2.5 *Eucalyptus citriodora*

A espécie *Eucalyptus citriodora* (Figuras 5 e 6) é conhecida popularmente como eucalipto-limão e desenvolve-se como uma árvore de médio a grande porte, com folhas lanceoladas com aroma de limão, inflorescências terminais e frutos em forma de cápsulas urceoladas ou sinos (Lopez, 2021). O óleo essencial de suas folhas é copiosamente utilizado nas indústrias química e cosmética, e possuem como componente principal o monoterpene citronelal, que confere aroma característico (Rodrigues, 2018; Barbosa, 2018).

Ademais, estudos mostram resultados satisfatórios do óleo essencial de *E. citriodora* na inibição de bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella choleraesuis*, indicando a posse de atividade antibacteriana dessa espécie (Estanislau et al., 2001). Outrossim, de acordo com Dias-Arieira *et al.* (2010) e Brito (2007) o *E. citriodora* manifestou-se também como um eficaz agente antifúngico e antiprotozoário, respectivamente.

Figura 5: Flores e frutos de *Eucalyptus citriodora*



Fonte: *Eucalyptus citriodora*. Disponível em: <https://www.etsy.com/listing/954885733/500-eucalyptus-citriodora-lemon-gum>. Acesso em 26 jan. 2023.

Figura 6: Árvore de *Eucalyptus citriodora*



Fonte: *Eucalyptus citriodora* (*Corymbia citriodora*). Disponível em: <https://www.sitiodamata.com.br/especies-de-plantas/mudas-de-plantas/eucalipto-citriodora-corymbia-citriodora.html>. Acesso em 26 jan. 2023.

REFERÊNCIAS

- ALELUIA, C. M. *et al.* Fitoterápicos na odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 27, n. 2, p. 126-134, 2017.
- ANDRADE, N. G. **A eucaliptização da capital catarinense da agroecologia: uma análise da expansão dos monocultivos de eucaliptos em Santa Rosa de Lima no sul do Brasil.** 2021. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC. 2021.
- ALMEIDA, L. A. M. **Utilização da fitoterapia como alternativa para o tratamento de infecções bacterianas.** 2017. Monografia (Bacharelado em Farmácia) – Faculdade de Maria Milza. Governador Mangabeira – BA. 2017.
- ÁLVAREZ, C. A. G. *et al.* Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a un peligroso enemigo. **Revista de la Facultad de Medicina**, v. 53, n. 1, p. 27-34, 2005.
- ALVES, L. A.; FREIRES, I. A.; 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, 2010.
- ASSUNÇÃO, R. G.; PEREIRA, W. A.; ABREU, A. G. Pneumonia bacteriana: aspectos epidemiológicos, fisiopatologia e avanços no diagnóstico. **Revista Investigação Biomédica**, v. 10, n. 1, p. 83-92, 2018.
- AZAMBUJA, W. (2017). Eucalipto citriodora. **Óleos Essenciais**. Disponível em <<https://www.oleosessenciais.org/oleo-essencial-de-eucalipto-citriodora/>> Acesso em 30 de março de 2021.
- AZAMBUJA, W. (2009). Eucalipto globulus. **Óleos Essenciais**. Disponível em <<https://www.oleosessenciais.org/oleo-essencial-de-eucalipto-globulus/>> Acesso em 30 de março de 2021.
- BARBOSA, J. P. **Atividade anti-Candida de óleos essenciais de espécies de Eucalyptus.** Tese de Doutorado. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas: São Paulo, 2018. 73p.
- BOHNEBERGER, G. *et al.* Fitoterápicos na odontologia, quando podemos utilizá-los?. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 4, p. 3504-3517, 2019.
- BOLES, B. R.; HORSWILL, A. R. Staphylococcal biofilm disassembly. **Trends in microbiology**, v. 19, n. 9, p. 449-455, 2011.
- BRITO, A. M. G. **Avaliação da atividade antileishmanial dos óleos essenciais das plantas *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., *Eucalyptus citriodora* Hook., *Mentha arvensis* L., e *Mentha piperita* L.** 2007. Dissertação de Mestrado (Saúde e Ambiente) – Universidade Tiradentes. 2007.

CAIXETA, M. A. *et al.* Estudo da formação de biofilmes por *Pseudomonas aeruginosa*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, 2019.

CÁRDENAS, O. G. *et al.* Perfis de resistencia a antibióticos y metales pesados en *Pseudomonas aeruginosa* potencialmente patógenas aisladas de agua de uso agrícola. **Nova scientia**, v. 9, n. 19, p. 97-112, 2017.

CARRILLO, I. *et al.* Propriedades anatômicas e químicas da madeira relacionadas à pulpabilidade de *Eucalyptus globulus*: uma revisão. **Florestas do Sul: um Journal of Forest Science**, v. 80, n. 1, pág. 1-8, 2018.

CARVALHO, A. C. *et al.* Formação e resistência do biofilme microbiano em insústrias processadoras de alimentos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 30, 2019.

CASTRO, M. F. F. **Comportamento do biofilme bacteriano em superfícies de implantes com diferentes tratamentos de superfície**. 2019. Tese de Doutorado (Medicina Dentária). Instituto Universitário Egas Moniz. 2019.

CASTRO, R. D.; LIMA, E. O. Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* L. sobre *Candida* spp. **Revista de Odontologia da UNESP (Online)**, p. 179-184, 2010.

COLOMBO, A. V. *et al.* Quantitative detection of *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa* in human oral epithelial cells from subjects with periodontitis and periodontal health. **Journal of medical microbiology**, v. 62, n. 10, p. 1592-1600, 2013.

DA SILVA, A. S. *et al.* Quórum sensing e suas implicações na formação de biofilme bacteriano em hospitais. **Journal of Infection Control**, v. 9, n. 1, p. 37-42, 2020.

DA SILVA, N. F. V.; KIMURA, C. A.; COIMBRA, M. V. S. Perfil de sensibilidade antimicrobiana das *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de pacientes da unidade de tratamento intensiva de um hospital público de Brasília. **Revista de Divulgação Científica Sena Aires**, v. 1, n. 1, p. 19-24, 2012.

DA SILVA TRENTIN, D.; GIORDANI, R. B.; MACEDO, A. J. Biofilmes bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate. **Revista Liberato**, v. 14, n. 22, p. 213-236, 2013.

DE OLIVEIRA, P. G. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais associados a ácido hialurônico de baixo peso molecular. **Revista Feridas**, v. 6, n. 30, p. 996-1002, 2018.

DIAS-ARIEIRA, C. R. *et al.* Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa phytopathologica**, v. 36, n. 3, p. 228-232, 2010.

DINI, V. S. Q. **Análise da resistência antimicrobiana em cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em Unidades de Tratamento Intensivo em Manaus**. 2016. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia. Universidade Federal do Amazonas. Manaus – AM. 2016.

ESTANISLAU, A. A. *et al.* Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 95-100, 2001.

FRASNELLI, S. C. T.; OLIVEIRA, G. J. P. L.; CANCIAN, D. C. J. O efeito da descontaminação oral na redução dos índices de infecções pulmonares nosocomiais: revisão literata. **Brazilian Journal of Periodontology**, v. 21, n. 2, p. 36-44, 2011.

HOLANDA, J. C. C. **Análise da viabilidade do acomplamento das propriedades fitoterápicas presentes nas folhas do *Eucalyptus Globulus* e no Limão Tahiti (*Citrus Latifolia*): uma revisão bibliográfica.** 2022. Trabalho de Conclusão de Curso. Bacharelado em Ciência e Tecnologia. Universidade Federal do Semi-Árido Pau dos Ferros – RN. 2022.

KASNOWSKI, M. C. *et al.* Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 8, n. 15, p. 1-23, 2010.

LOPEZ, N. Y. T. **Rendimiento y calidad de aceite esencial de hojas y frutos de *Eucalyptus citriodora* Hook Oxapampa-Pasco.** 2021.

MARCONI, C. ***Pseudomonas aeruginosa* na otite externa em animais de companhia: resistência aos antimicrobianos.** 2019. Tese de Doutorado. Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária. 2019.

MEIRA, R. R. Interação entre fungos e bactérias no biofilme: Influência na virulência microbiana. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 8, 2021.

MENOITA, E. *et al.* Biofilmes: conhecer a entidade. **Journal of Aging & Inovation**, v. 1, n. 2, p. 23-32, 2012.

MOTA, F. S.; OLIVEIRA, H. A.; SOUTO, R. C. F. Perfil e prevalência de resistência aos antimicrobianos de bactérias gram-negativas isoladas de pacientes de uma unidade de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 50, n. 3, p. 270-277, 2018.

MOTA, V. S.; TURRINI, R. N. T.; POVEDA, V. B. Atividade antimicrobiana do óleo de *Eucalyptus globulus*, xilitol e papaína: estudo piloto. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 49, n. 2, p. 0216-0220, 2015.

NASCIMENTO, A.; PRADE, A. C. K. Aromaterapia: o poder das plantas e dos óleos essenciais. **Recife: Fiocruz-PE**, 2020.

NAUE, C. R. *et al.* Prevalência e perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de pacientes internados em Unidade de Terapia Intensiva de um hospital universitário do Sertão de Pernambuco. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 42, n. 1, p. 15-28, 2021.

NEVES, M. L. R. *et al.* A influência do quórum sensing na formação do biofilme por *Pseudomonas aeruginosa*. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. e33910212659-e33910212659, 2021.

NEVES, P. R. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 4, p. 409-420, 2011.

NÓBREGA, M. S.; DO CARMO FILHO, J. R.; PEREIRA, M. S. Evolução da resistência de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* em unidades de terapia intensiva. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, v. 15, n. 3, p. 694-701, 2013.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNETRA, D. F.; PICCOLI, R. H. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 69, n. 3, p. 277-284, 2010.

PAZ-ZARZA, V. M. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. **Revista chilena de infectología**, v. 36, n. 2, p. 180-189, 2019.

PEDRAZA, M. C. C. **Função de DNA extracelular e de ácido lipoteicóico nas propriedades estruturais e funcionais da matriz extracelular de biofilmes cariogênicos**. 2016. Dissertação de Mestrado em Reabilitação Oral. Universidade Estadual Paulista. Araraquara – SP. 2016.

PIATI, A.; SCHNEIDER, C. F.; NOZAKI, M. H. Efeito in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre o crescimento e desenvolvimento de *Penicillium* sp. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 3, p. 1033-1040, 2011.

PINTO, G. P. N. M. **Biofilmes e feridas crônicas**. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. 2016. Universidade Fernando Pessoa. Porto. 2016.

QUEIROGA, G. M. T. **Plantas medicinais e fitoterápicos como alternativa terapêutica às infecções urinárias: um diagnóstico dessa realidade na saúde pública de Mossoró**. 2015. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró – RN. 2015.

RIBEIRO, A. I. F. **Biofilmes, microbiomas e infecções da pele**. 2019. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Fernando Pessoa. Porto. 2019.

RIBEIRO, M. C. E. **Adesão e Formação de Biofilme por *Bacillus cereus* em aço Inoxidável**. 2015. Tese de Doutorado em Tecnologia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. 2015.

ROCA, D. A. L. *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. **Acta bioquímica clínica latinoamericana**, v. 48, n. 4, p. 465-474, 2014.

RODRIGUES, A. C. *et al.* Evaluation of the Antibacterial and Antifungal Activities of the Monoterpene Eucalyptol (1,8-Cineole): An *in silico* Study. **International Journal of science and Research Methodology**, v. 22, n. 3, p. 70-78, 2022.

RODRIGUES, J. S. **Frequência de resistência a múltiplos fármacos em *Pseudomonas aeruginosa***. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Alagoas.

RODRIGUES, L. **Toxicidade do odor de óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e**

***Corymbia citriodora* sobre o carrapato *Rhipicephalus microplus*.** Nova Odessa, SP, 2018.

SALAMANCA, E. J. F. **Influência da matriz extracelular na expressão gênica de *Streptococcus mutans* em biofilme cariogênico.** 2017. Dissertação de Mestrado em Reabilitação Oral. Universidade Estadual Paulista. Araraquara – SP. 2017.

SANTI, S. S.; SANTOS, R. B. A prevalência da pneumonia nosocomial e sua relação com a doença periodontal: revisão de literatura. **Revista da Faculdade de Odontologia-UPF**, v. 21, n. 2, 2016.

SANTOS, I. A. L.; NOGUEIRA, J. M. R.; MENDONÇA, F. C. R. Mecanismos de resistência antimicrobiana em *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, p. 5-12, 2015.

SARTO, M. P. M.; ZANUSSO JUNIOR, G. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Revista UNINGÁ Review**, v. 20, n. 1, 2014.

SILVA, S. T. **Análise fenotípica e genética de fatores virulência de isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* multidroga-sensível e multidroga-resistente de Recife-PE.** 2016. Dissertação de Mestrado (Medicina Tropical). Universidade Federal de Pernambuco. Recife – PE. 2016.

SOUTO, R.; SILVA-BOGHOSSIAN, C. M.; COLOMBO, A. P. V. Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 495-501, 2014.

SPEZZIA, S. Pneumonia nosocomial, biofilme dentário e doenças periodontais. **Brazilian Journal Periodontology**, v. 29, n. 2, p. 65-72, 2019.

TEIXEIRA, R. F. *et al.* A higiene bucal em pacientes de unidade de terapia intensiva. **Revista Naval de Odontologia**, v. 45, n. 1, 2018.

URQUHART, C. *et al.* Atividade Antibiofilme da Cumarina frente *Pseudomonas aeruginosa*. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 77261-77268, 2020.

VASCONCELLOS, L. *et al.* Caracterização molecular e avaliação da formação e tolerância a biocida do biofilme de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de águas minerais naturais. **Revista Científica do UBM**, p. 193-205, 2021.

VENTURINI, D. A. **Avaliação da ação de moléculas sinalizadoras produzidas por *Pseudomonas aeruginosa* na formação do biofilme multiespécie de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em superfície de aço inoxidável.** 2017. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão – PR. 2017.

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

3 ARTIGO

Avaliação das atividades antibacteriana e antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*

Ana Beatriz Bomfim Gomes Ribeiro, Raline Mendonça dos Anjos e Abrahão Alves de Oliveira Filho

RESUMO

O biofilme pode ser definido como um complexo ecossistema microbiológico sésil, formado por uma ou mais espécies de bactérias, fungos ou protozoários, isolados ou em combinação, embebido em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares. Dentre os microorganismos capazes de formar biofilme tem-se a *Pseudomonas aeruginosa*, bactéria gram-negativa com amplos fatores de virulência e elevada resistência à antimicrobianos, dificultando o tratamento de infecções acometidas por ela, sendo uma das principais responsáveis por infecções nosocomiais. Nesse sentido, diante de diversos estudos que demonstram sua eficácia, a fitoterapia e os óleos essenciais apresentam-se como promissoras alternativas terapêuticas frente à microorganismos multirresistentes. À vista disso, o objetivo da presente pesquisa foi avaliar as atividades antibacteriana e antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra a cepas clínicas de *P. aeruginosa*, e comparar os seus efeitos antibiofilme com digluconato de clorexidina a 0,12%. Como metodologia utilizou-se de experimentos em duplicata, sendo que para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos óleos foi empregada a técnica de microdiluição em caldo em placas de 96 poços. Concomitantemente, para a determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) usou-se da técnica de tubos de vidro inclinados na presença de 5% de sacarose, empregando proporções correspondentes ao óleo essencial puro até a diluição 1:1024, e seu controle positivo foi com digluconato de clorexidina a 0,12%. Os resultados obtidos indicaram que os óleos essenciais de *E. globulus* e *E. citriodora* variaram entre os efeitos forte e moderado diante das cepas de *P. aeruginosa* testadas, assim como entre ação bactericida e bacteriostática. Além disso, os óleos demonstraram efeito antiaderente eficaz e superior ao controle positivo, destacando-se o *E. globulus* como mais eficaz.

Palavras-chave: Fitoterapia, Odontologia, Microbiologia.

Submissão : 28 de Agosto de 2023

Publicação :

ISSN: 2593-8339

DOI:

10.24018/ejmed.YEAR.Vol.Issue.ID

A. B. B. G. Ribeiro*

Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brazil.

(e-mail:

abeatrizbomfim98@gmail.com)

R. M. Dos Anjos

Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brazil

(e-mail: raline.anjos@gmail.com)

A. A. De Oliveira Filho

Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brazil

(e-mail: abrahao.farm@gmail.com)

**Autor Correspondente*

I. INTRODUÇÃO

O biofilme pode ser definido como um complexo ecossistema microbiológico sésil, formado por uma ou mais espécies de bactérias, fungos ou protozoários, isolados ou em combinação [1, 2]. Estima-se que mais de 90% dos microorganismos vivem sob essa forma de vida, podendo colonizar quase que qualquer ambiente com condições favoráveis [3]. As bactérias podem viver como células de vida livre (ou planctônicas) ou como células sésseis, também chamadas de biofilme, o qual indica o seu teor crônico de formação [4, 5].

Essa estrutura encontra-se embebida em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares, responsável pela morfologia, estrutura, coesão e integridade funcional do biofilme, no qual se adere a uma superfície biótica ou abiótica. É sabido que a água está presente em grande proporção na composição do biofilme, preenchendo até cerca de 97% da matriz, enquanto os microorganismos compõem em torno de 3% dessa organização [1, 6, 7].

O combate do biofilme pode suceder por meio da inibição de sua formação, ou do tratamento do biofilme já

formado. A primeira ocorre através do bloqueio da adesão bacteriana a uma superfície ou por meio do rompimento da comunicação entre essas bactérias (*Quorum sensing*) pelo uso profilático de antibióticos e biocidas. Já o tratamento acontece mediante a remoção mecânica desse biofilme, o uso de antimicrobianos e a substituição dos dispositivos biomédicos [8-11].

Dentre os microorganismos capazes de formar biofilme, encontra-se a *Pseudomonas aeruginosa*, uma bactéria gram-negativa em forma de bacilo, com amplos fatores de virulência e intrinsecamente resistente a diversos antibacterianos. Essa espécie é encontrada principalmente em dispositivos biomédicos implantáveis, sendo uma das principais responsáveis por infecções nosocomiais. Estudos também detectaram a presença significativa de *P. aeruginosa* em biofilme subgingival de pacientes com periodontite e em canal endodôntico [6, 12-16].

A *Pseudomonas aeruginosa* apresenta diversos mecanismos de resistência à antibacterianos, tanto natural quanto adquirida, dentre elas, a produção de enzimas β -lactamases, as quais inativam drogas betalactâmicas como penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos [17-20]. As infecções causadas por essa bactéria estão entre as mais temidas, devido à dificuldade de tratamento consequente da elevada resistência dessa espécie, apresentando assim, um desafio para as opções terapêuticas sintéticas [21].

Destarte, a fitoterapia tem se tornado uma promissora alternativa terapêutica para o tratamento de microorganismos multirresistentes, visto suas diversas vantagens como menor custo à população e aos serviços de saúde, grande disponibilidade de matéria-prima, boa aceitação popular, menor efeito colateral e melhor tolerância dos pacientes [22, 23]. Nesse sentido encontram-se os óleos essenciais, também chamados de óleos voláteis ou essências, que se originam do metabolismo secundário de plantas e apresentam-se como misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas [24, 25].

Ademais, o eucalipto pode ser encontrado em todas as regiões da flora brasileira, sendo conhecidas cerca de 400 espécies, as quais podem ser aproveitadas desde o seu caule para extração de celulose, até suas folhas, onde são retirados seus óleos essenciais [26, 27]. Esses óleos podem ser divididos em três grupos substanciais, que se diferenciam de acordo com a finalidade: medicinal, industrial ou de perfumaria [28].

A espécie *Eucalyptus globulus* é a principal produtora dos óleos com fins medicinais, sendo seu principal componente o monoterpeno cineol, bastante utilizado em produtos farmacêuticos como inalantes, saborizantes e aromatizantes para medicamentos e produtos de higiene bucal. Já o *Eucalyptus citriodora* é o mais explorado na indústria de perfumaria, com o constituinte predominante sendo o monoterpeno citronelal, utilizado para aromatizar produtos de limpeza [28-30].

Desta maneira, tendo em vista o conhecimento sobre as propriedades dos óleos essenciais contra diversos microorganismos, este trabalho propõe-se avaliar as potenciais atividades antibacteriana e antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

II. OBJETIVOS

A. Geral

Avaliar as atividades antimicrobiana e antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

B. Específicos

- Analisar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e de *Eucalyptus citriodora* contra as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*;
- Determinar a Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e de *Eucalyptus citriodora* contra as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*;
- Identificar a Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e de *Eucalyptus citriodora* contra as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*;
- Comparar efeito antiaderente dos óleos essenciais do *Eucalyptus globulus* e de *Eucalyptus citriodora* com a clorexidina a 0,12%.

III. METODOLOGIA

A. Local de estudo

Os testes laboratoriais foram realizados nos laboratórios de Microbiologia e Bioquímica da Universidade Federal de Campina Grande, campus de Patos (CSTR), estado da Paraíba – Brasil.

B. Substâncias-teste e microorganismos

Os óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* foram adquiridos na Indústria Quinari ® (Ponta Grossa - PR). Para a realização dos ensaios farmacológicos, quando necessário as substâncias foram solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO) e diluído em água destilada. A concentração de DMSO utilizada foi inferior a 0,1% v/v. O projeto segue as normas do CGen - Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, cadastrado na plataforma SISGEN sob o número de protocolo A25230B. Foram utilizadas três cepas clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* (PA 101, PA 104 e PA 109), as quais foram mantidas em meio Ágar Muller Hinton (AMH) a uma temperatura de 4 °C, sendo utilizada para os ensaios repiques de 24 horas em AMH incubada a 35° ± 2° C. Os inóculos foram obtidos a partir de culturas overnight em líquido Muller Hinton (MH) a 35° ± 2° C e diluídas em solução salina estéril para obter a concentração final de aproximadamente 1,5 x 10⁸ UFC/mL, ajustado pela turvação comparando-se com o tubo 0,5 da escala McFarland [31].

C. Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados nos ensaios para

avaliação da atividade antimicrobiana foram o meio MH e o meio sólido Ágar Muller Hinton (AMH). O meio de cultura foi adquirido na Difco® e preparado de acordo com as instruções do fabricante.

D. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi determinada utilizando a técnica de microdiluição em placa de 96 poços com fundo em “U”. Em cada placa foram adicionados 100 µL caldo Mueller Hinton, duplamente concentrado, e 100 µL dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* previamente solubilizados em DMSO e diluídos em água destilada, e respectivamente, nas concentrações de 1024 a 16 µg/mL. A determinação da CIM foi conduzida com 10 µL dos microorganismos em cada cavidade, aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. O penúltimo contendo 200 µL do caldo foi inoculado com a suspensão de microrganismo, sendo o controle do crescimento, e o último poço recebeu apenas 200 µL do caldo, sendo o controle negativo. O ensaio foi realizado em duplicata. As placas foram incubadas a $35^\circ \pm 2^\circ$ C durante 24 horas [31-34].

E. Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Após a leitura dos resultados, foram feitos inóculos (10 µL) de três diluições a partir da CIM para o meio de caldo Mueller-Hinton (100 µL/cavidade) em placa de microdiluição esterilizada para a determinação da CBM. Após a incubação a $35^\circ \pm 2^\circ$ C por 24 horas foi adicionado 20 µL de resazurina. Os ensaios foram incubados a temperatura de $35^\circ \pm 2^\circ$ C por mais 24 horas para confirmação da concentração capaz de inibir o crescimento total das espécies bacterianas, verificado por uma não mudança da coloração do corante indicador [35-36].

F. Determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA)

A Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* foi determinada na presença de sacarose a 5%, de acordo com Albuquerque *et al.* (2010) com modificações, usando-se proporções correspondentes ao composto puro até a diluição 1:1024. A partir do crescimento bacteriano, as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* foram cultivadas a $35^\circ \pm 2^\circ$ C em caldo Mueller Hinton (DIFCO, Michigan, Estados Unidos), depois foram distribuídos 0,9 mL do subcultivo em tubos de ensaio e, em seguida, adicionado 0,1 mL da solução correspondente às diluições dos óleos essenciais. A incubação foi feita a $35^\circ \pm 2^\circ$ C por 24 horas com tubos inclinados a 30° .

A leitura foi realizada por meio da observação visual da aderência das bactérias às paredes do tubo, após a agitação desse com adição de solução de fucsina. 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.

IV. RESULTADOS

Os resultados no estudo da CIM indicaram que a menor concentração do óleo essencial de *E. citriodora* capaz de inibir o crescimento bacteriano da cepa PA101 foi de 500 µg/mL, para a cepa PA104 foi de 62,5 µg/mL e para PA109 de 1000 µg/mL. Quanto ao óleo de *E. globulus* a CIM foi de 1000 µg/mL, 62,5 µg/mL e > 1000 µg/mL respectivamente, como apresentado nas tabelas I e II.

TABELA I: Concentração Inibitória Mínima (CIM em µg/mL) do óleo essencial de *E. citriodora* contra cepas de *P. aeruginosa*.

<i>E. citriodora</i>	
Cepas	Concentração em µg/mL
PA101	500
PA104	62,5
PA109	1000

Fonte: Próprio autor (2023).

TABELA II: Concentração Inibitória Mínima (CIM em µg/mL) do óleo essencial de *E. globulus* contra cepas de *P. aeruginosa*.

<i>E. globulus</i>	
Cepas	Concentração em µg/mL
PA101	1000
PA104	62,5
PA109	> 1000

Fonte: Próprio autor (2023).

No que diz respeito ao estudo da CBM, os resultados expostos nas tabelas III e IV revelam valores para cepa PA101 sendo > 1000 µg/mL, para PA104 de 250 µg/mL, e para PA109 de 1000 µg/mL, referentes ao óleo essencial de *E. citriodora*. Paralelamente, o óleo de *E. globulus* apresentou CBM > 1000 µg/mL para PA101, e 1000 µg/mL para PA104. Ainda, pode-se observar a ação de determinado óleo em relação as cepas, assim, ambos os óleos essenciais apresentaram efeito bacteriostático frente as cepas PA101 e PA104. Ademais, o óleo de *E. citriodora* demonstrou efeito bactericida diante da cepa PA109, em contrapartida, não foi realizada CBM para esta cepa com o óleo de *E. globulus*, visto que sua CIM obteve valor > 1000 µg/mL.

Por fim, os experimentos da CIMA indicaram que a menor concentração do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* capaz de inibir a adesão de *Pseudomonas aeruginosa* (PA104) à parede do tubo foi de 1:8. Em

relação ao óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, a sua menor concentração eficaz foi de 1:128. Dessa forma, ambos demonstraram boa eficiência contra a formação do biofilme por esta bactéria, com resultados superiores ao controle com digluconato de clorexidina 0,12%, o qual inibiu a formação do biofilme até a concentração 1:4, como descrito nas tabelas V e VI respectivamente.

TABELA III: Concentração Bactericida Mínima (CBM em µg/mL) do óleo essencial de *E. citriodora* contra cepas de *P. aeruginosa*.

<i>E. citriodora</i>		
Cepas	Concentração em µg/mL	Efeito
PA101	> 1000	Bacteriostático
PA104	250	Bacteriostático
PA109	1000	Bactericida

Fonte: Próprio autor (2023).

TABELA IV: Concentração Bactericida Mínima (CBM em µg/mL) do óleo essencial de *E. globulus* contra cepas de *P. aeruginosa*.

<i>E. globulus</i>		
Cepas	Concentração em µg/mL	Efeito
PA101	> 1000	Bacteriostático
PA104	1000	Bacteriostático
PA109	–	–

Fonte: Próprio autor (2023).

TABELA V: Concentração Inibitória Mínima de Adesão (CIMA) do óleo essencial de *E. citriodora* contra cepas de *P. aeruginosa*.

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

Digluconato de clorexidina 0,12%								
Concentração	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
	-	-	-	+	+	+	+	+

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

Fonte: Próprio autor (2023).

TABELA VI: Concentração Inibitória Mínima de Adesão (CIMA) do óleo essencial de *E. globulus* contra cepas de *P. aeruginosa*.

<i>Eucalyptus globulus</i>								
Concentração	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
	-	-	-	-	-	-	-	-

Digluconato de clorexidina 0,12%								
Concentração	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
	-	-	-	+	+	+	+	+

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

Fonte: Próprio autor (2023).

IV. DISCUSSÃO

De acordo com Sartoratto *et al.* [38] (2004), a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é classificada de acordo com o valor da CIM, podendo ser forte quando estes apresentarem uma CIM de até 500 µg/mL, moderada para valores entre 600 a 1500 µg/mL e fraca para acima de 1500 µg/mL. Deste modo, os resultados

identificados nesta pesquisa validam que a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *E. citriodora* exibe uma forte inibição frente as cepas PA101 e PA104 de *P. aeruginosa*, e ação moderada para cepa PA109. O óleo de *Eucalyptus globulus* possui forte efeito contra cepas PA104 e moderado contra PA101, quanto a cepa PA109, por meio da metodologia aplicada, não foi possível determinar sua CIM.

Com efeito, os resultados obtidos a partir do óleo essencial de *E. citriodora* na presente pesquisa são validados pelo trabalho de Bezerra *et al.* [39] (2020), visto que este demonstrou os efeitos antibacteriano forte e bacteriostático contra *P. aeruginosa* pela ação do monoterpeno citronelal, o qual é composto majoritário do então óleo essencial, com a CIM correspondendo a 512 µg/mL. Além disso, obteve-se seguimento similar ao resultado da CIM do mesmo óleo, sendo eficaz na menor proporção de 1:8, e superior ao controle positivo.

Em experimentos realizados por Monteiro *et al.* [40] (2021) com o óleo essencial de *E. globulus* para verificar seu potencial antibacteriano contra *E. coli*, *E. fecalis* e *S. aureus*, foi possível observar que o óleo em sua concentração máxima apresentou inibição superior que a do controle positivo com digluconato de clorexidina 0,12% ante as duas primeiras espécies, e semelhante ao controle quando usado contra *S. aureus*. Ainda, em sua concentração de 50% obteve eficácia igual ao controle para *E. fecalis*. Tais resultados ratificam a sua ação antimicrobiana frente as principais bactérias da cavidade oral.

Estudos na literatura já demonstram a atividade antibacteriana do óleo essencial de *E. globulus*, à exemplo, Merghni *et al.* [41] (2018) avaliaram o efeito antimicrobiano desse óleo e de seu componente principal, 1,8-cineol, contra cepas de *S. aureus* resistentes à metilina, e então evidenciaram a eficácia de ambos em inibir o desenvolvimento de biofilme pela bactéria analisada, bem como a elevada atividade *anti-quorum sensing* do óleo, mesmo em baixa concentração. Assim, os resultados supracitados encontrados na pesquisa desenvolvida são embasados por achados científicos documentados na literatura.

Segundo Hafidh *et al.* [42] (2011), para uma substância ser considerada bactericida a sua CBM deve ser igual ou duas vezes maior que a CIM, já para ser considerada bacteriostática, a CBM deve ser maior que duas vezes a CIM. Logo, os resultados encontrados nesse estudo indicam que o óleo essencial de *E. citriodora* apresenta um potencial bactericida frente a cepa PA109, e bacteriostático para as cepas PA101 e PA104. No que se refere ao óleo essencial de *E. globulus*, observou-se que este possui ação bacteriostática para as cepas PA101 e PA104.

Nesse sentido, Insuan e Chahomchuen [43] (2020) em seus estudos analisaram a atuação do óleo essencial de *E. citriodora* contra as cepas bacterianas *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, sendo estas de origem distinta das cepas da presente pesquisa. Obtiveram, por meio de técnicas de difusão em disco e microdiluição, resultados positivos para atividade antibacteriana em todas as espécies testadas. Destacando-se seu efeito contra *P. aeruginosa*, o óleo demonstra sua ação bactericida, com desempenho na sua parede e membrana celular, visto que após determinado período de incubação dessa bactéria com o óleo observou-se graves alterações morfológicas.

Outrossim, um estudo realizado por Resende *et al.* [44] (2022) avaliou o potencial antimicrobiano e antibiofilme

do óleo essencial de *E. globulus* contra cinco cepas bacterianas, dentre elas, a *P. aeruginosa*, essa sendo de diferente linhagem das cepas desta pesquisa. Foi possível verificar que o óleo apresentou efeito bacteriostático contra essa espécie, e ainda, por meio da técnica em microplacas com poços de fundo chato, inibiu a aderência celular inicial, tornando a classificação dessa de “muito aderente” para “aderência moderada”, com taxa de inibição de 75,85%. Ainda nessa pesquisa, foi analisado o efeito do óleo associado à antimicrobianos comerciais através da técnica de difusão em disco, dessa forma, foi possível observar que o óleo apresentou efeito sinérgico de ação quando associado à ciprofloxacino e à gentamicina, comparado com o efeito isolado de cada antimicrobiano.

Ademais, quanto ao efeito antiaderente do óleo de *E. globulus*, o presente estudo corrobora com os resultados positivos obtidos em trabalhos de Matos [45] (2021) e Ramalho *et al.* [46] (2020), nos quais a concentração inibitória mínima de aderência (CIMA) desse óleo contra a cepa de *Staphylococcus aureus* e de *Klebsiella pneumoniae*, respectivamente, foi eficaz na sua proporção de 1:8, sendo semelhante ao êxito do digluconato de clorexidina a 0,12%, em ambos os experimentos. Em contrapartida, nas mesmas análises, o óleo essencial de *E. citriodora* não apresentou atividade antiaderente contra as bactérias testadas em nenhuma concentração.

V. CONCLUSÃO

Em suma, mediante a metodologia utilizada, conclui-se que os óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* demonstraram efeito antibacteriano contra as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* testadas, variando entre os efeitos bactericida e bacteriostático, bem como, apresentaram efeito antiaderente contra essas bactérias, sendo superior ao controle positivo com digluconato de clorexidina 0,12%, destacando-se o óleo de *E. globulus* como mais eficaz.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver qualquer conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

- [1] Kasnowski MC, Mantilla SP, Oliveira LA, Franco RM. Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. Rev Cient Eletrônica Med Vet. 2010;8(15):1-23.
- [2] Meira RR. Interação entre fungos e bactérias no biofilme: Influência na virulência microbiana. Rev Multidiscip Saúde. 2021;2(1):8.
- [3] Menoita E, Santos V, Testas C, Gomes C, Santos AS. Biofilmes: conhecer a entidade. J Aging Innov. 2012;1(2):23-32.
- [4] Da Silva Trentin D, Giordani RB, Macedo AJ. Biofilmes bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate. Rev Liberato. 2013;14(22):213-236.
- [5] Ribeiro AI. Biofilmes, microbiomas e infecções da pele [Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas]. Porto: Universidade Fernando Pessoa; 2019.
- [6] Da Silva AS, Silva AL, Ribeiro AC, Rocha CM, Silva NB, Da Silva GL, *et al.* Quorum sensing e suas implicações na formação de biofilme bacteriano em hospitais. Int J Infec Control. 2020;9(1):37-42.

- [7] Oliveira MM, Brugneta DF, Piccoli RH. Biofilmes microbianos na indústria de alimentos: uma revisão. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2010;69(3):277-284.
- [8] Boles BR, Horswill AR. Staphylococcal biofilm disassembly. *Trends Microbiol*. 2011;19(9):449-455.
- [9] Carvalho AC, Ribeiro RA, Zago S, Bonnas D. Formação e resistência do biofilme microbiano em insústrias processadoras de alimentos. *Enciclop Biosf*. 2019;16(30).
- [10] Castro MF. Comportamento do biofilme bacteriano em superfícies de implantes com diferentes tratamentos de superfície [Tese de Doutorado (Medicina Dentária)]. Instituto Universitário Egas Moniz. 2019.
- [11] Frasnelli SC, Oliveira GJ, Cancian DC. O efeito da descontaminação oral na redução dos índices de infecções pulmonares nosocomiais: revisão literatura. *Braz J Periodontol*. 2011;21(2):36-44.
- [12] Colombo AV, Barbosa GM, Higashi D, Di Micheli G, Rodrigues PH, Simionato MR. Quantitative detection of *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa* in human oral epithelial cells from subjects with periodontitis and periodontal health. *J Med Microbiol*. 2013;62(10):1592-1600.
- [13] Roca DA. *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2014;48(4):465-474.
- [14] Neves PR, Mamizuka EM, Levy CE, Lincopan N. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente: um problema endêmico no Brasil. *Jornal Bras Patol Med Lab*. 2011;47(4):409-420.
- [15] Spezzia S. Pneumonia nosocomial, biofilme dentário e doenças periodontais. *Braz J Periodontol*. 2019;29(2):65-72.
- [16] Vasconcellos L, Miranda CA, Costa PV, Silva IC, Romão CM, Brandão ML. Caracterização molecular e avaliação da formação e tolerância a biocida do biofilme de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de águas minerais naturais. *Rev Cient UBM*. 2021. p. 193-205.
- [17] Álvarez CA, Castro AL, Gonzalez MJ, Jiménez ML. Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a un peligroso enemigo. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2005;53(1):27-34.
- [18] Caixeta MA, Braga A, Almeida D, Pinto O, Santana E, Naves P. Estudo da formação de biofilmes por *Pseudomonas aeruginosa*. *Enciclop Biosf*. 2019;16(29).
- [19] Mota FS, Oliveira HA, Souto RC. Perfil e prevalência de resistência aos antimicrobianos de bactérias gram-negativas isoladas de pacientes de uma unidade de terapia intensiva. *RBAC*. 2018;50(3):270-277.
- [20] Santos IA, Nogueira JM, Mendonça FC. Mecanismos de resistência antimicrobiana em *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Bras Anal Clin*. 2015. p. 5-12.
- [21] Nóbrega MS, Do Carmo Filho JR, Pereira MS. Evolução da resistência de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* em unidades de terapia intensiva. *Rev Eletr Enferm*. 2013;15(3):694-701.
- [22] Aleluia CM, Procópio VC, Oliveira MT, Furtado PG, Giovannini JF, Mendonça SM. Fitoterápicos na odontologia. *Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo*. 2017;27(2):126-134.
- [23] Almeida LA. Utilização da fitoterapia como alternativa para o tratamento de infecções bacterianas [Monografia (Bacharelado em Farmácia)]. Governador Mangabeira: Faculdade de Maria Milza; 2017.
- [24] Nascimento A, Prade AC. Aromaterapia: o poder das plantas e dos óleos essenciais. *Fiocruz PE*. 2020;(2):33.
- [25] Sarto MP, Zanusso Junior G. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. *Rev UNINGÁ Review*. 2014;20(1).
- [26] Andrade NG. A eucaliptização da capital catarinense da agroecologia: uma análise da expansão dos monocultivos de eucaliptos em Santa Rosa de Lima no sul do Brasil [Dissertação de Mestrado (Agroecossistemas)]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina. 2021.
- [27] Estanislau AA, Barros FA, Peña AP, Santos SC, Ferri PH, Paula JR. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. *Rev Bras Farmacogn*. 2001;11(2):95-100.
- [28] Vitti AM, Brito JO. Óleo essencial de eucalipto. *Documentos florestais*. 2003;17:1-26.
- [29] Azambuja W. Eucalipto globulus. Óleos Essenciais [Internet]. 2009. Disponível em <<https://www.oleosessenciais.org/oleo-essencial-de-eucalipto-globulus/>> Acesso em 30 de março de 2021.
- [30] Azambuja W. Eucalipto citriodora. Óleos Essenciais [Internet]. 2017. Disponível em <<https://www.oleosessenciais.org/oleo-essencial-de-eucalipto-citriodora/>> Acesso em 30 de março de 2021.
- [31] Bona EA, Pinto FG, Fruet TK, Jorge TC, De Moura AC. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. *Arq Inst Biol*. 2014;81:218-225.
- [32] Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Fourth International Supplement. CLSI document M27-4 [Internet]. 2012. Disponível em: <https://clsi.org/media/1897/m27ed4_sample.pdf> Acesso em 28 jul. 2023.
- [33] Palomino JC, Martin A, Camacho M, Guerra H, Swings J, Portaels F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(8):2720-2722.
- [34] Ostrosky EA, Mizumoto MK, Lima ME, Kaneko TM, Nishikawa SO, Freitas BR. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Rev Bras Farmacogn*. 2008;18(2).
- [35] Guerra FQ, Arrua JM, Oliveira WA, Da Costa JG. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cinnamomum zeylanicum* Blume essential oil on multi-drug resistant *Acinetobacter* spp. strains. *Biofar*. 2012;8(1):62-70.
- [36] Ncube NS, Afolayan AJ, Okoh AI. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *Afr J Biotechnol*. 2008;7(12).
- [37] Albuquerque AC, Pereira SA, Higino JS, Furtado D. Efeito antiaderente do extrato da *Matricaria recutita* Linn. Sobre microorganismos do biofilme dental. *Rev Odontol UNESP*. 2010;39(1):21-5.
- [38] Sartoratto A, Machado AL, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MC, Rehder VL. Composição e actividade antimicrobiana dos óleos essenciais de plantas aromáticas utilizadas no Brasil. *Rev Bras Microbiol*. 2004; 35(4):275-280.
- [39] Bezerra RV, Batista FB, Ferreira JL, Cavalcante JN, Siqueira DS, De Oliveira HM, et al. Avaliação da atividade antibacteriana do monoterpene (S)-(-)-citronelal contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*. 2020;18(1):507-516.
- [40] Monteiro NF, Lima HM, Da Silva FL, Sousa FC, Da Silva WC, Reis LC, et al. Atividade do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* no controle de bactérias da cavidade oral. *Res Soc Dev*. 2021;10(14):e60101420387-e60101420387.
- [41] Merghni A, Noumi E, Hadded O, Dridi N, Panwar H, Ceylan O, et al. Assessment of the antibiofilm and antiquorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* essential oil and its main component 1, 8-cineole against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Microb Pathog*. 2018;118:74-80.
- [42] Hafidh RR, Abdulmir AS, Vern LS, Bakar FA, Abas F, Jahanshiri F, et al. Inibição do crescimento de agentes patogênicos bacterianos e fúngicos altamente resistentes por um produto natural. *Rev Microbiol Aberta*. 2011; 5:96.
- [43] Insuan, Wimonrut; Chahomchuen, Thippayarat. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil extracted from *Eucalyptus citriodora* leaf. *Microbiol Biotechnol Lett*. 2020;48(2):148-157.
- [44] Resende JA, Fontes EN, Rosa RC, Gava LD, Fernandes FJ, Ignacchiti MD. Potencial antimicrobiano e antibiofilme de *Eucalyptus globulus* e *Mentha piperita* L. e a associação com antimicrobianos comerciais. *Sci Plena*. 2022;18(11).
- [45] Matos NO. Avaliação do efeito antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepa de *Staphylococcus aureus* [Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Odontologia)]. 2021. Patos: Universidade Federal de Campina Grande.
- [46] Ramalho MA, Santos B, Da Cunha SM, Dos Anjos RM, De Oliveira HM, De Sousa AP, et al. Atividade antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. *Res Soc Dev*. 2020;9(7):e406974245-e406974245, 2020.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma, mediante a metodologia utilizada, conclui-se que os óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* demonstraram efeito antibacteriano contra as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* testadas, variando entre os efeitos bactericida e bacteriostático, bem como, apresentaram efeito antiaderente contra essas bactérias, sendo superior ao controle positivo com digluconato de clorexidina 0,12%, destacando-se o óleo de *E. globulus* como mais eficaz.

Com base nesses dados, observa-se o potencial farmacológico dos óleos essenciais estudados, sendo necessários mais estudos para evolução no desenvolvimento de futuros medicamentos com atividade antibacteriana contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

ANEXO A – NORMAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA

European Journal of Medical and Health Sciences (EJMED) é uma revista internacional revisada por pares publicada pela **European Open Science** bimestralmente. A revista publica:

- Artigos de pesquisa completos de última geração
- Comentários
- Estudos de caso
- Comunicações curtas relacionadas com todas **as áreas das Ciências Médicas e da Saúde**.

Todos os artigos enviados:

- deve ser original
- devem ser resultados **de pesquisas inéditas**
- deve ser experimental ou teórico
- e será revisado **por pares**
- não pode ser considerado **para publicação em outro lugar a qualquer momento durante o período de revisão**

A EJMED está aceitando manuscritos para publicação em inglês. A revista considera artigos que não foram publicados anteriormente nem submetidos simultaneamente em outro lugar em qualquer idioma. O formulário de direitos autorais será fornecido pelo editor para os artigos aceitos.

A relevância científica cada vez maior dos artigos publicados e a melhoria da qualidade dos exemplares impressos é o principal objetivo de nossa política editorial.

Tolerância zero para plágio

Esta revista tem uma política de “Tolerância Zero ao Plágio”. Verificamos o problema de plágio por meio de dois métodos: **verificação do revisor** e **ferramenta de prevenção de plágio** (iThenticate.com). Todos os envios serão verificados pelo software de prevenção de plágio antes de serem enviados aos revisores.

Foco e Escopo

European Journal of Medical and Health Sciences (EJMED) é um jornal on-line de alta qualidade, acesso aberto, internacional, revisado por pares, que visa publicar mensalmente artigos de pesquisa originais completos, revisões e estudos de caso relacionados a todas as áreas das Ciências Médicas e da **Saúde** como:

- Anestesia
- Anatomia
- Bioquímica
- Pesquisa de câncer/oncologia
- Cardiologia
- Medicina Comunitária
- Odontologia
- Dermatologia e Doenças Venéreas
- Diabetes
- Endocrinologia

- Medicina forense
- Gastroenterologia
- Cirurgia geral
- Genética
- Geriatria/Envelhecimento
- Hematologia
- Doenças infecciosas
- Medicina Interna
- Educação médica
- Microbiologia
- Neurologia/Neurocirurgia
- Nefrologia
- Obstetrícia & ginecologia
- Oftalmologia
- Ortopedia
- Otorrinolaringologia
- Farmacologia
- Patologia
- Fisiologia
- Pediatria
- Medicina Pulmonar
- Psiquiatria
- Radiologia
- Reumatologia
- Cirurgia
- Urologia

Processo de Revisão por Pares

O processo de revisão é considerado crítico para estabelecer um corpo confiável de pesquisa e conhecimento. O processo de revisão visa fazer com que os autores atendam aos padrões de sua disciplina e da ciência em geral.

Usamos um sistema duplo-cego para revisão por pares; as identidades dos revisores e dos autores permanecem anônimas entre si. O artigo será revisado por dois ou três especialistas; um é da equipe editorial e os outros dois são revisores externos.

O editor passará os manuscritos aceitos para publicação a uma editora que será responsável pela organização dos serviços editoriais e impressão online da publicação.

Lista de verificação de preparação de envio

Como parte do processo de submissão, os autores devem verificar a conformidade de sua submissão com todos os itens a seguir, e as submissões podem ser devolvidas aos autores que não aderirem a essas diretrizes.

- A submissão não foi publicada anteriormente, nem está antes de outro periódico para consideração (ou uma explicação foi fornecida em Comentários ao Editor).
- O arquivo de submissão está em formato de arquivo de documento OpenOffice, Microsoft Word, RTF ou WordPerfect conforme modelo de manuscrito com comprimento máximo de 10 páginas.
- Se este artigo for aceito para publicação, você será solicitado a pagar uma taxa de publicação de artigo (69 libras esterlinas) para cobrir os custos de publicação.
- Quando disponíveis, foram fornecidos URLs para as referências. O texto está em espaçamento simples; usa uma fonte de 10 pontos; emprega itálico, em vez de sublinhado (exceto com endereços URL); e todas as ilustrações, figuras e tabelas são colocadas no texto nos pontos apropriados, e não no final.
- O texto segue os requisitos estilísticos e bibliográficos descritos nas Diretrizes para Autores, que se encontram em Sobre a Revista.
- Ao enviar para uma seção de revisão por pares da revista, as instruções em Garantindo uma revisão cega foram seguidas.

Diretrizes do autor

EJMED é um periódico internacional revisado por pares que publica artigos em todos os campos das ciências médicas e da saúde. A Revista publica artigos que relatam contribuições originais ao conhecimento científico. Ao submeter o manuscrito, o(s) Autor(es) deverá(ão) indicar claramente sua área de especialização. Artigos de pesquisa em um idioma diferente do inglês NÃO são aceitos.

O(s) autor(es) deve(m) enviar apenas artigos que foram cuidadosamente revisados e polidos. Antes da submissão, certifique-se de que seu artigo foi preparado usando o modelo de artigo EJMED. Isso garantirá processamento e publicação rápidos. A notificação de aceitação ou rejeição será enviada a todos os autores.

Modelo de papel:

O artigo deve descrever claramente resultados novos e cuidadosamente confirmados e procedimentos experimentais que devem ser fornecidos em detalhes necessários para que outros possam verificar o trabalho. O Paper pode ter até 10 páginas excluindo referências e resumo. Para referência adequada e publicação rápida, todos os manuscritos devem estar gramaticalmente corretos.

Modelo de manuscrito:

Estas instruções fornecem diretrizes para a preparação de artigos para esta revista.

- A configuração do papel deve estar no tamanho A4 com margem: superior 1,78 cm, inferior 1,78 cm, esquerda 1,65 cm, direita 1,65 cm, medianiz 0 cm e posição do medianiz superior.
- O artigo deve estar em uma coluna após o nome do autor. Todo o trabalho deve

estar com: Nome da Fonte Times New Roman, Tamanho da Fonte 10, Espaçamento entre Linhas 1,05, recuo 0,36 cm na primeira linha, EXCETO Resumo, Palavras-chave, Título do Trabalho, Referências, Perfil do Autor (na última página do trabalho, máximo 400 palavras).

- Todos os Títulos e Detalhes do Manuscrito (Primeira Página, lado direito).
- O título do trabalho deve estar em tamanho de fonte 20 com espaçamento entre linhas simples.
- O Nome dos Autores deve estar em Fonte Tamanho 11, Antes Espaçamento 0, Após Espaçamento 16, com Espaçamento Simples. Por favor, não escreva o e-mail ou o endereço do autor no lugar do nome do autor. e-mail dos autores, e seus detalhes de endereço devem estar nos detalhes do manuscrito.
- Resumo e palavras-chave devem estar em tamanho de fonte 9, negrito com espaçamento simples.
- Todos os títulos principais devem estar em letras maiúsculas, centralizado e numeração romana (I, II, III...etc.), antes espaçamento 12, após espaçamento 6, com espaçamento entre linhas simples.
- Todos os subtítulos devem estar em letras maiúsculas e minúsculas, 0,25 cm à esquerda, itálico e numeração alfabética (A, B, C... etc.), antes do espaçamento 6, depois do espaçamento 3, com espaçamento entre linhas simples.
- Os detalhes do manuscrito devem estar em tamanho de fonte 8, primeira página e lado direito com espaçamento simples.
- As referências devem estar em tamanho de fonte 8, com espaçamento simples entre linhas.
- O Perfil do Autor deve estar em fonte tamanho 8, com espaçamento simples entre linhas. As legendas das tabelas e figuras devem estar em fonte tamanho 8.
- Use o estilo de referência Vancouver. As referências devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que são mencionadas pela primeira vez. Coloque cada número de referência entre colchetes [1] ao longo do texto, tabelas e legendas. Se a mesma referência for usada novamente, reutilize o número original. A pontuação da frase segue os colchetes [2]. Referências múltiplas [2], [3] são numeradas com colchetes separados.

Declaração de privacidade

Os nomes e endereços de e-mail inseridos neste site da revista serão usados exclusivamente para os propósitos declarados desta revista e não serão disponibilizados para qualquer outra finalidade ou para qualquer outra parte. A administração da revista fornece atualizações e notícias aos autores, revisores e editores por e-mail.

A EJMED se dedica a seguir as melhores práticas em questões éticas, erros e retratações. A prevenção de más práticas de publicação é uma das importantes responsabilidades do conselho editorial. Qualquer tipo de comportamento antiético não é aceitável, e a EJMED não tolera plágio de qualquer forma. Os autores que submetem artigos à EJMED afirmam que o conteúdo do manuscrito é original. Além disso, eles garantem que seu artigo não foi publicado em outro lugar nem está em revisão para publicação em qualquer lugar.

ANEXO B – TEMPLATE DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA EJMED

Preparação de artigos para o Revista Europeia de Ciências Médicas e da Saúde (EJMED)

Primeiro A. Autor, Segundo B. Autor e Terceiro C. Autor

RESUMO

(**Leia atentamente o resumo do modelo**). Estas instruções dão-lhe orientações para a preparação de artigos para esta revista. A configuração do papel deve ser em tamanho A4 com Margem: Superior 1,78 cm, Inferior 1,78 cm, Esquerda 1,65 cm, Direita 1,65 cm, Calha 0 cm e Posição da Calha Superior. O papel deve ser apresentado numa coluna a seguir ao nome do autor. Todo o artigo deve ser escrito com: Nome da fonte Times New Roman, Tamanho da fonte 10, Espaçamento entre linhas 1,05, recuo 0,36 cm na primeira linha, EXCEPTO Resumo, Palavras-chave, Título do artigo, Referências, Perfil do autor (na última página do artigo, máximo de 400 palavras), Todos os títulos e Detalhes do manuscrito (Primeira página, lado direito). O título do artigo deve ser apresentado em letra de tamanho 20 e espaçamento simples entre linhas. O nome do autor deve estar em tamanho de letra 11, espaçamento 0 antes e 16 depois, com espaçamento simples entre linhas. Não escrever o e-mail do autor ou o endereço do autor no lugar do nome do autor. O e-mail do autor e os detalhes do seu endereço devem constar dos detalhes do manuscrito. O resumo e as palavras-chave devem estar em tamanho de letra 9, negrito, com espaçamento de uma linha. Todos os títulos principais devem estar em maiúsculas, ao centro e em numeração romana (I, II, III... etc.), com espaçamento 12 antes e 6 depois, com espaçamento simples entre linhas. Todos os subtítulos devem estar em maiúsculas, à esquerda 0,25 cm, itálico e numeração alfabética (A, B, C... etc.), antes do espaçamento 6, depois do espaçamento 3, com espaçamento simples entre linhas. Os detalhes do manuscrito devem estar em tamanho de fonte 8, na primeira página e no lado direito, com espaçamento simples entre linhas. As referências devem estar em tamanho de fonte 8, com espaço 0,63 e espaçamento simples entre linhas. O perfil do autor deve estar em tamanho de fonte 8, com espaçamento simples entre linhas. A legenda das tabelas e figuras deve ser em tamanho de letra 8. O texto das tabelas deve estar em tamanho de fonte 8, com espaçamento entre linhas 1,1.

Palavras-chave: Cerca de quatro palavras-chave ou frases em ordem alfabética, separadas por vírgulas.

Submissão: Outubro 1, 2021

Publicação: Outubro 30, 2021

ISSN: 2593-8339

DOI: 10.24018/ejmed.ANO.Vol.Issue.ID

P. A. Autor*

Instituto Nacional de Normas e Tecnologia, Boulder, CO, EUA.
(e-mail: autor.boulder.nist.gov)

S. B. Author

Rice University, Houston, TX, USA.
(e-mail: autor@lamar.colostate.edu)
Rice University, Houston, TX, EUA.
(e-mail: author.lamar.colostate.edu)

T. C. Author

Departamento de Engenharia Eléctrica,
Universidade do Colorado, Boulder, CO
EUA

(e-mail: autor@nrim.go.jp)

*Autor Correspondente.

I. INTRODUÇÃO

Realce uma secção que pretenda designar com um determinado estilo e, em seguida, seleccione o nome adequado no menu de estilos. O estilo irá ajustar os tipos de letra e o espaçamento entre linhas. Não altere o tamanho dos tipos de letra ou o espaçamento entre linhas para colocar mais texto num número limitado de páginas. Utilize itálico para dar ênfase; não sublinhe.

Para inserir imagens no Word, posicione o cursor no ponto de inserção e use Inserir | Imagem | Do ficheiro ou copie a imagem para a área de transferência do Windows e depois Editar | Colar Especial | Imagem (com "Flutuar sobre o texto" desmarcado).

A revista reserva-se o direito de efectuar a formatação final do seu artigo

II. PROCEDIMENTO PARA A SUBMISSÃO

A. Fase de Revisão

Envie o seu manuscrito electronicamente para revisão.

B. Fase Final

Quando apresentar a sua versão final, depois de o seu trabalho ter sido aceite, prepare-o em formato de duas colunas, incluindo figuras e tabelas.

C. Figuras

Como já foi dito, para inserir imagens no Word, posicione o cursor no ponto de inserção e utilize Inserir | Imagem | Do ficheiro ou copie a imagem para a área de transferência do Windows e, em seguida, Editar | Colar especial | Imagem (com "Flutuar sobre o texto")

desmarcado).

Os autores dos manuscritos aceites receberão um formulário de direitos de autor, que deverá acompanhar a sua apresentação final.

III. MATEMÁTICA

Se estiver utilizando o Word, utilize o Microsoft Equation Editor ou o suplemento MathType (http://www.mathtype.com) para equações no seu artigo (Inserir | Objecto | Criar novo | Microsoft Equation ou MathType Equation). A opção "Flutuar sobre o texto" não deve ser seleccionada.

IV. UNIDADES

Utilizar o SI (MKS) ou o CGS como unidades primárias. (As unidades inglesas podem ser utilizadas como unidades secundárias (entre parêntesis). Isto aplica-se a trabalhos em armazenamento de dados. Por exemplo, escreva "15 Gb/cm2 (100 Gb/in2)". Uma excepção é quando as unidades inglesas são usadas como identificadores no comércio, como "3½ in disk drive". Evitar combinar unidades SI e CGS, tais como corrente em amperes e campo magnético em oersteds. Isto leva frequentemente a confusão porque as equações não se equilibram dimensionalmente. Se tiver de utilizar unidades mistas, indique claramente as unidades de cada quantidade numa equação.

A unidade SI para a intensidade do campo magnético H é A/m. No entanto, se pretender utilizar unidades de T, refira a densidade do fluxo magnético B ou a intensidade do campo magnético simbolizada como $\mu_0 H$. Utilize o ponto central para separar unidades compostas, por exemplo, "A-m2". Helpful Hints

A. Figuras e Tabelas

Uma vez que a formatação final do seu documento é limitada em termos de escala, é necessário posicionar as figuras e tabelas no topo e no fundo de cada coluna. As figuras e tabelas de grandes dimensões podem abranger ambas as colunas. Coloque as legendas das figuras por baixo das figuras; coloque os títulos das tabelas por cima das tabelas. Se a sua figura tiver duas partes, inclua as etiquetas "(a)" e "(b)" como parte do trabalho artístico. Verifique se as figuras e tabelas que menciona no texto existem efectivamente. Não coloque margens no exterior das suas figuras. Utilize a abreviatura "Fig." mesmo no início de uma frase. As figuras são numeradas com algarismos árabes. Não abrevie "Tabela". As tabelas são numeradas com algarismos romanos.

Inclua uma nota com o seu trabalho final indicando que solicita a impressão a cores. Não utilize cores a não ser que sejam necessárias para a correcta interpretação das suas figuras.

As etiquetas dos eixos das figuras são muitas vezes uma fonte de confusão. Utilize palavras em vez de símbolos. Por exemplo, escreva a quantidade "Magnetização", ou "Magnetização M", e não apenas "M". Coloque as

unidades entre parênteses. Não rotule os eixos apenas com unidades. Como na Fig. 1, por exemplo, escreva "Magnetização (A/m)" ou "Magnetização (A m-1)", e não apenas "A/m". Não escreva os eixos com uma relação de quantidades e unidades. Por exemplo, escreva "Temperatura (K)" e não "Temperatura/K".

Os multiplicadores podem ser especialmente confusos. Escreva "Magnetização (kA/m)" ou "Magnetização (103 A/m)." Não escreva "Magnetização (A/m) × 1000" porque o leitor não saberia se a etiqueta do eixo superior na Fig. 1 significa 16000 A/m ou 0,016 A/m. As etiquetas das figuras devem ser legíveis, com um tipo de letra de aproximadamente 8 a 12 pontos. O formato dos números decimais deve ser o mesmo para os eixos (por exemplo, 1.0, 1.2, e não 1, 1.2). Inserir gráficos editáveis. Não insira tabelas como imagens. O texto das tabelas não deve ser envolvido. As figuras devem ser inseridas em linha com o texto. As figuras devem ser de alta qualidade. O texto nas figuras deve ser distinto e não desfocado.

TABELA I: DISPOSIÇÃO DOS CANAIS

Canais	Grupo 1	Grupo 2	...	Grupo c
Canal principal	Canal 1	Canal 2	...	Canal c
Canal assistente	Canal 2	Canal 3	...	Canal 1

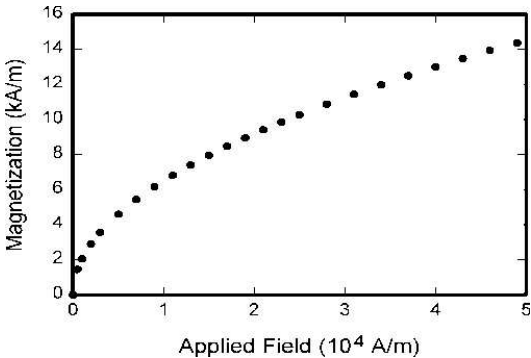


Fig. 1. Magnetização em função do campo aplicado.

B. Referências

Utilize o estilo de referência de Vancouver. As referências devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que são mencionadas pela primeira vez. Colocar cada número de referência entre parêntesis rectos [1] em todo o texto, tabelas e legendas. Se a mesma referência for usada novamente, reutilize o número original. A pontuação da frase segue os parêntesis [2]. As referências múltiplas [2], [3] são numeradas com parêntesis separados [1]-[3]. Quando citar uma secção de um livro, indique os números das páginas correspondentes [2]. Nas frases, referir simplesmente o número de referência, como em [3]. Não use "Ref. [3]" ou "referência [3]" excepto no início de uma frase: "A referência [3] mostra " Quando os nomes dos autores são usados na citação de texto, siga as seguintes regras: até 3 autores - nomeie 3 autores e depois coloque a referência, por exemplo, "Smith, Jones e McDonald [1] relataram que "; mais de 3 autores - por exemplo, "Smith et al. [1] relata..." Numerar as notas de rodapé separadamente em sobrescritos (Inserir | Nota de rodapé). Colocar a nota de rodapé na parte inferior da coluna em

que é citada; não colocar as notas de rodapé na lista de referências (notas finais). Utilizar letras para notas de rodapé de tabelas.

Tenha em atenção que as referências no final deste documento estão no estilo de referência preferido. Indique os nomes de todos os autores; não utilize "*et al.*", excepto se houver seis ou mais autores. Utilize um espaço após as iniciais dos autores. Os trabalhos que não tenham sido publicados devem ser citados como "não publicados". Os trabalhos que foram submetidos para publicação devem ser citados como "submitted for publication". Os trabalhos aceites para publicação, mas ainda não especificados para um número, devem ser citados como "a publicar". Por favor, indique as afiliações e endereços para comunicações privadas.

Apenas a primeira palavra do título do artigo deve ser escrita em maiúsculas, excepto no caso de nomes próprios e símbolos de elementos. No caso de artigos publicados em revistas de tradução, indicar primeiro a citação em inglês, seguida da citação original em língua estrangeira.

C. Abreviaturas e Acrónimos

Definir as abreviaturas e acrónimos na primeira vez que forem utilizados no texto, mesmo depois de já terem sido definidos no resumo. Abreviaturas como SI, ac, e dc não precisam de ser definidas. Abreviaturas que incorporam pontos não devem ter espaços: escreva "C.N.R.S.", e não "C. N. R. S.". Não utilize abreviaturas no título, excepto se forem inevitáveis (por exemplo, "title" no título deste artigo).

D. Equações

Numere as equações consecutivamente, com os números das equações entre parênteses, alinhados com a margem direita, como em (1). Primeiro, utilize o editor de equações para criar a equação. Em seguida, seleccione o estilo de marcação "Equação". Prima a tecla tab e escreva o número da equação entre parênteses. Para tornar as suas equações mais compactas, pode utilizar o sólido (/), a função exp ou expoentes apropriados. Utilize parênteses para evitar ambiguidades nos denominadores.

$$\int_0^{r_2} F(r, \phi) dr d\phi = [\sigma r_2 / (2\mu_0)] \cdot \int_0^\infty \exp(-\lambda |z_j - z_i|) \lambda^{-1} J_1(\lambda r_2) J_0(\lambda r_i) d\lambda. \quad (1)$$

Certifique-se de que os símbolos da sua equação foram definidos antes de a equação aparecer ou imediatamente a seguir. O tamanho dos símbolos nas equações deve ser de tamanho de letra 10. Coloque os símbolos em itálico (T pode referir-se à temperatura, mas T é a unidade tesla). Referir-se a "(1)" e não a "Eq. (1)" ou "equação (1)", excepto no início de uma frase: "A equação (1) é ...".

E. Outras Recomendações

Utilize um espaço a seguir aos pontos e aos dois pontos. Hifenizar modificadores complexos: "magnetização arrefecida a campo zero". Evite participípios pendentes, tais

como: "Usando (1), o potencial foi calculado." [Escreva, em vez disso, "O potencial foi calculado usando (1)" ou "Usando (1), calculámos o potencial".

Utilizar um zero antes das casas decimais: "0,25", e não ",25". Utilizar "cm³" e não "cc". Indique as dimensões da amostra como "0,1 cm • 0,2 cm," e não "0,1 • 0,2 cm²." Utilize um espaço entre o número e a unidade: 0,1 cm, e não 0,1cm. A abreviatura de "segundos" é "s" e não "sec". Não misture grafias completas e abreviaturas de unidades: use "Wb/m²" ou "webers por metro quadrado", e não "webers/m²". Quando expressar um intervalo de valores, escreva "7 a 9" ou "7-9", e não "7~9".

Uma declaração parentética no final de uma frase é pontuada fora do parêntesis de fecho (assim). (Uma frase parentética é pontuada dentro dos parênteses.) No inglês americano, os pontos e as vírgulas estão entre aspas, como "this period". A restante pontuação está "fora"! Evite contracções; por exemplo, escreva "do not" em vez de "don't". A vírgula em série é preferível: "A, B e C" em vez de "A, B e C".

Se desejar, pode escrever na primeira pessoa do singular ou do plural e utilizar a voz activa ("Eu observei que..." ou "Nós observámos que..." em vez de "Observou-se que..."). Não se esqueça de verificar a ortografia. Se a sua língua materna não for o inglês, peça a um colega de língua materna inglesa para rever o seu trabalho.

V. ALGUNS ERROS COMUNS

A palavra "dados" está no plural, não no singular. O subscrito para a permeabilidade do vácuo μ_0 é zero, e não uma letra minúscula "o". O termo para magnetização residual é "remanência"; o adjetivo é "remanescente"; não se escreve "remanescente" ou "remanescente". Utilize a palavra "micrómetro" em vez de "micron". Um gráfico dentro de um gráfico é um "inset", não um "insert". A palavra "alternativamente" é preferível à palavra "alternadamente" (a não ser que queira realmente dizer algo que alterna). Utilize a palavra "whereas" em vez de "while" (a menos que esteja a referir-se a eventos simultâneos). Não utilize a palavra "essencialmente" para significar "aproximadamente" ou "efectivamente". Não utilizar a palavra "questão" como eufemismo para "problema". Quando as composições não são especificadas, separe os símbolos químicos por traços; por exemplo, "NiMn" indica o composto intermetálico Ni_{0.5}Mn_{0.5}, enquanto "Ni-Mn" indica uma liga de composição Ni_xMn_{1-x}.

Tenha em atenção os diferentes significados dos homófonos "afectar" (geralmente um verbo) e "efeito" (geralmente um substantivo), "complemento" e "elogio", "discreto" e "discreto", "principal" (por exemplo, "investigador principal") e "princípio" (por exemplo, "princípio de medição"). Não confundir "implicar" e "inferir".

Prefixos como "non", "sub", "micro", "multi" e "ultra" não são palavras independentes; devem ser unidos às palavras que modificam, geralmente sem hífen. Não há

ponto final após o "et" na abreviatura latina "et al." (também está em itálico). A abreviatura "i.e." significa "isto é", e a abreviatura "e.g." significa "por exemplo" (estas abreviaturas não estão em itálico).

Um excelente manual de estilo e fonte de informação para escritores científicos é [9].

VI. POLÍTICA EDITORIAL

O autor que submete o artigo é responsável por obter o acordo de todos os co-autores e qualquer consentimento necessário dos patrocinadores antes de submeter um artigo. É obrigação dos autores citar trabalhos anteriores relevantes. Os autores de artigos rejeitados podem rever e voltar a submetê-los à revista.

VII. PRINCÍPIOS DE PUBLICAÇÃO

O conteúdo da revista é revisto por pares e arquivado. A revista publica artigos académicos de valor arquivístico, bem como exposições tutoriais e resenhas críticas de temas clássicos e tópicos de interesse actual.

Os autores devem ter em conta os seguintes pontos:

1) Os artigos técnicos submetidos para publicação devem avançar o estado do conhecimento e devem citar trabalhos anteriores relevantes.

2) A extensão de um artigo submetido deve ser proporcional à importância, ou apropriada à complexidade, do trabalho. Por exemplo, uma extensão óbvia de um trabalho publicado anteriormente pode não ser apropriada para publicação ou pode ser tratada adequadamente em apenas algumas páginas.

3) Os autores devem convencer os revisores e os editores do mérito científico e técnico de um artigo; os padrões de prova são mais elevados quando são comunicados resultados extraordinários ou inesperados.

4) Como a replicação é necessária para o progresso científico, os artigos submetidos para publicação devem fornecer informações suficientes para permitir que os leitores realizem experiências ou cálculos semelhantes e utilizem os resultados relatados. Embora nem tudo precise de ser divulgado, um artigo deve conter informação nova, utilizável e completamente descrita. Por exemplo, a composição química de uma amostra não precisa de ser comunicada se o principal objectivo de um artigo for introduzir uma nova técnica de medição. Os autores devem esperar ser questionados pelos revisores se os resultados não forem apoiados por dados adequados e pormenores críticos.

VIII. CONCLUSÃO

Não é necessária uma secção de conclusão. Embora a conclusão possa rever os pontos principais do artigo, não se deve reproduzir o resumo como conclusão. A conclusão pode desenvolver a importância do trabalho ou sugerir aplicações e extensões.

APÊNDICE

Os apêndices, se necessários, aparecem antes do agradecimento.

AGRADECIMENTO

The A grafia preferida da palavra "acknowledgment" em inglês americano é sem um "e" depois do "g". Utilizar o título no singular, mesmo que haja muitos agradecimentos. Evite expressões como "Um de nós (S.B.A.) gostaria de agradecer" Em vez disso, escreva "F. A. O autor agradece ..."

FINANCIAMENTO

Os agradecimentos ao patrocinador e ao apoio financeiro podem ser colocados nesta secção.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não ter qualquer conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

(Artigo de jornal, até 6 autores)

[1] Johnston KJ, Hammond G, Meyers DJ, Joynt Maddox KE. Association of race and ethnicity and medicare program type with ambulatory care access and quality measures. JAMA. 2021 agosto 17; 326 (7): 628-636. doi: 10.1001 / jama.2021.10413.

[2] Naderi SH, Bestwick JP, Wald DS. Adesão a medicamentos que previnem doenças cardiovasculares: meta-análise em 376.162 pacientes. Am J Med. 2012; 125(9): 882-887.e1.

(Artigo de jornal, mais de 6 autores)

[3] Guilbert TW, Morgan WJ, Zeiger RS, Mauger DT, Boehmer SJ, Szefer SJ, et al. Long-term inhaled corticosteroids in preschool children at high risk for asthma. N Engl J Med. 2006 May 11;354(19):1985-1997. (Artigos de jornal pré-impressos)

[4] Silas P, Yates JR, Haynes PD. Investigação funcional da densidade da transição de fase romboédrica para cúbica simples do arsénio. A ser publicado na Physical Review B. Arxiv. [Preprint] 2008. Disponível em: <http://arxiv.org/abs/0810.1692> [Acedido em 23 de Julho de 2010].

(Estilo de livro)

[5] Arens AA. Auditoria na Austrália: uma abordagem integrada. 5th ed. Frenchs Forest: Pearson Education Australia; 2002.

[6] Simons NE, Menzies B, Matthews M. A Short Course in Soil and Rock Slope Engineering. London: Thomas Telford Publishing; 2001.

(Capítulo de livro)

[7] Chen WK. Linear Networks and Systems, Belmont, CA: Wadsworth, 1993, pp. 123-135.

[8] Poor H. An Introduction to Signal Detection and Estimation; New York: Springer-Verlag, 1985, cap. 4.

(Estilo de livro com título do artigo e editor)

[9] Scholtz RA. The Spread Spectrum Concept. In: Multiple Access. Abramson N. Ed. Piscataway, NJ: IEEE Press, 1993, cap. 3, pp. 121-123.

[10] Young GO. Synthetic structure of industrial plastics. In "Plastics, 2nd ed. vol. 3, Peters J, Ed. New York: McGraw-Hill, 1964, pp. 15-64.

(Publicado no estilo de Actas de Conferência)

[11] Kasmani MB. A Socio-linguistic Study of Vowel Harmony in Persian (Different Age Groups Use of Vowel Harmony Perspective). Actas Internacionais de Desenvolvimento e Investigação Económica, ed. Chen Dan, pp. 359 e 359, respectivamente. Chen Dan, pp. 359-366, vol. 26, Singapura, 2011.

[12] Harnden P, Joffe JK, Jones WG, editores. Germ cell tumours V. Proceedings of the 5th Germ Cell Tumour Conference; 2001 Sep 13 -15; Leeds, UK. New York: Springer; 2002.

(estilo Tese ou Dissertação)

[13] Williams J. Analisador de banda estreita. Tese de doutoramento. Universidade de Harvard; 1993.

[14] Kawasaki N. Parametric study of thermal and chemical

nonequilibrium nozzle flow. Tese de Mestrado, Universidade de Osaka, 1993.

(Estilo de patente)

[15] J. P. Wilkinson. Dispositivos de circuitos ressonantes não lineares. Patente dos EUA 3 624 12, 16 de Julho de 1990.

(Estilo das normas)

[16] Símbolos de letras para quantidades. Norma ANSI Y10.5-1968.

[17] British Standards Institution. BS EN 1993-1-2:2005. Eurocódigo 3. Projecto de estruturas de aço. Regras gerais. Projecto estrutural ao fogo. Londres: BSI; 2005.

(Estilo de manual)

Transmission Systems for Communications, 3ª ed., Western Electric Co., Winston-Salem, NC, 1985, pp. 44-60.

[19] Motorola Semiconductor Data Manual, Motorola Semiconductor Products Inc., Phoenix, AZ, 1989.

(Artigos não em inglês)

[20] Forneau E, Bovet D. Recherches sur l'action sympathicolytique d'un nouveau dérivé du dioxane. Arch Int Pharmacodyn. 1933;46:178-191. Francês.

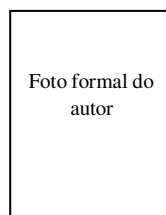
(Página Web/ Website)

[21] Wikipedia.org. Introdução à relatividade geral [Internet]. 2021 [actualizado em 28 de Maio de 2021; citado em 13 de Julho de 2021]. [9 telas]. Disponível em: https://en.wikipedia.org/wiki/Introduction_to_general_relativity.

[22] Queensland University of Technology. Writing literature reviews. [Internet] 2010 [updated 2020 Jun 23; cited 2020 Dec 6]; Disponível em: <http://www.citewrite.qut.edu.au/write/litreviews.jsp>.

[23] Queensland University of Technology. Redigir revisões de literatura. [Internet] 2010 [updated 2020 Jun 23; cited 2020 Dec 6]; Available from: <http://www.citewrite.qut.edu.au/write/litreviews.jsp>.

(Todos os autores podem incluir biografias com fotografias no final dos trabalhos).



Primeiro A. Autor e os outros autores podem incluir biografias no final dos seus trabalhos regulares. O primeiro parágrafo pode conter o local e/ou a data de nascimento (enumere o local e depois a data). De seguida, apresenta-se a formação académica do autor. Os graus académicos devem ser enumerados com o tipo de grau, a área, a instituição, a cidade, o estado ou o país e o ano em que o grau foi obtido. A área de estudo principal do autor deve ser apresentada em minúsculas.

O segundo parágrafo utiliza o pronome de pessoa (ele ou ela) e não o apelido do autor. Enumera a experiência militar e profissional, incluindo empregos de Verão e bolsas de estudo. Os títulos dos empregos são escritos em maiúsculas. O emprego actual deve ter uma localização; os empregos anteriores podem ser indicados sem localização. Podem ser incluídas informações relativas a publicações anteriores. Tente não listar mais de três livros ou artigos publicados. O formato para listar as editoras de um livro dentro da biografia é o título do livro (cidade, estado: nome da editora, ano) semelhante a uma referência. Os interesses de investigação actuais e anteriores terminam o parágrafo.

O terceiro parágrafo começa com o título e o apelido do autor (por exemplo, Dr. Smith, Prof. Jones, Sr. Kajor, Sra. Hunter). Enumerar os membros de outras sociedades profissionais para além da IAENG. Por último, indique eventuais prémios e trabalhos em comités e publicações. Se for fornecida uma fotografia, a biografia será indentada à volta da mesma. A fotografia é colocada no canto superior esquerdo da biografia. Os passatempos pessoais serão eliminados da biografia.