

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

RAQUEL VIEIRA BEZERRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO MONOTERPENO (S)-(-)-
CITRONELAL CONTRA CEPAS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***

PATOS - PB

2019

RAQUEL VIEIRA BEZERRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO MONOTERPENO (S)-(-)-
CITRONELAL CONTRA CEPAS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***

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

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho

PATOS - PB

2019

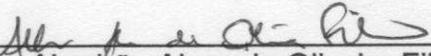
RAQUEL VIEIRA BEZERRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO MONOTERPENO (S)-(-)-
CITRONELAL CONTRA CEPAS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***

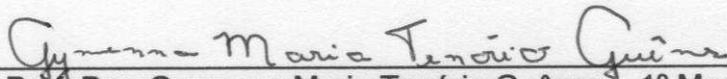
Trabalho de Conclusão do Curso (TCC) apresentado à Coordenação do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Aprovado em 25/09/2019

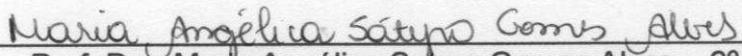
BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dra. Gymenna Maria Tenório Guênes – 1º Membro
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG



Prof. Dra. Maria Angélica Satyro Gomes Alves – 2º Membro
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

B574a Bezerra, Raquel Vieira
Avaliação da atividade antibacteriana do monoterpeno (S)-(-)-citronelal contra cepas de pseudomonas aeruginosa / Raquel Vieira Bezerra.
– Patos, 2019.
31f.

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

“Orientação: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho”.

Referências.

1. Fitoterapia. 2. Microbiologia. 3. Terpeno. 4. Pseudomonas aeruginosas. I. Título.

CDU 577.1:616.314

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse, e ao longo de minha vida me proporcionou inúmeras oportunidades de lutar pela realização dos meus sonhos, e não somente nestes anos como universitária, mas em todos os momentos me abençoou com tamanhas bençãos.

Serei eternamente grata a minha mãe/avó, Osmarina Sena, que não mediu esforços para que este momento fosse possível, que sempre esteve ao meu lado me apoiando ao longo de toda minha trajetória, que acreditou nos meus sonhos e que eu seria capaz de superar todos os obstáculos e pela sua incansável dedicação. Agradeço também a meu pai/avô, Claro Vieira (*in memoriam*), que foi meu maior exemplo de força e coragem, e sempre me incentivou aos estudos.

Aos meus pais, Antonio Oliveira e Analia Vieira, que tanto lutaram pela minha educação e que nunca me deixaram perder a fé, sempre com palavras de incentivo, otimismo e orgulho, o meu muito obrigada. Agradeço a minha família e meus amigos por todo carinho, amor e força, e em especial a minha irmã Rayanne Vieira por todo o companheirismo. Gostaria de agradecer a meu marido, Julio Cesar, meu grande incentivador, que se desdobrou em esforços para me ajudar durante todo esse tempo, que nunca me deixou desistir dos meus sonhos por mais difíceis que parecessem e também a toda sua família pelo apoio.

Ao professor Dr. Abrahão Alves eu agradeço a orientação e a confiança que tornaram possível a realização desse trabalho, e também pela oportunidade de trabalharmos juntos na monitoria, extensão (especialmente o LAFBIM) e pesquisa. Agradeço as professoras Dra. Maria Angélica e Dra. Gymenna Maria por participarem desse momento tão especial e único. Gostaria de agradecer também ao professor Dr. Julierme Ferreira, pela oportunidade de participar do projeto LAC-UFCG, por todo conhecimento repassado, pela confiança e apoio.

Não poderia deixar de agradecer aos meus amigos, Isabelle Silvério, Nathalia Flores, Vitória Ramalho, Lukas Natã, Rauhan Gomes e em especial minha dupla e irmã acadêmica Ana Letícia, que ganhei durante a vida acadêmica e que estiveram sempre comigo durante essa longa jornada. Serão certamente profissionais de muito sucesso, pois são muito merecedores. Por fim, agradeço a todos que contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal.

BEZERRA, R. V. **Avaliação da atividade antibacteriana do monoterpeneo (S)-(-)-citronelal contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa***. Patos, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, 2019, 31p.

RESUMO

O uso de produtos naturais na Odontologia constitui uma alternativa viável e eficaz na prevenção e combate de diversas patologias da cavidade oral, destacando-se o citronelal e seus enantiômeros pertencentes ao grupo dos monoterpenos, proveniente do metabolismo secundário das plantas. Este composto já apresentou diversas atividades biológicas testadas e confirmadas tais como antimicrobiana. O presente estudo objetiva avaliar a atividade antibacteriana do monoterpeneo (S)-(-)-citronelal contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Na metodologia utilizou-se a técnica de microdiluição seriada para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM). Em uma placa de 96 orifícios, foi adicionado caldo Mueller Hinton, o monoterpeneo nas diferentes concentrações e o inocúlo das cepas bacterianas. As placas foram incubadas a 37°C durante 24-48 horas. Após a leitura da CIM, alíquotas de 20 µL foram retiradas de cada poço que não apresentou crescimento bacteriano, e transferidas para poços de uma nova placa, desprovidas de qualquer antimicrobiano, foi assepticamente fechada e incubada a 35 °C, e as CBMs foram registradas após 48 horas. Foi também realizado a Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA), através de uma simulação, *in vitro*, do biofilme dental. Os resultados obtidos para o monoterpeneo testado foi de CIM igual à 512 µg/mL, apresentando assim efeito antibacteriano forte, porém não apresentou valores de CBM e mostrou-se efetivo na inibição de aderência da *Pseudomonas aeruginosa* até uma concentração de 1:8. Com base nos resultados conclui-se que o monoterpeneo (S)-(-)-citronelal possui efeito bacteriostático e antiaderente efetiva sobre as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Palavras-chave: Fitoterapia, Microbiologia, Terpeno, *Pseudomonas aeruginosa*, Odontologia.

ABSTRACT

The use of natural products in dentistry constitutes a viable and effective alternative in the prevention and combat of various pathologies of the oral cavity, highlighting the O and its enantiomers belonging to the group of Monoterpenes, derived from the metabolism Secondary plants. This compound already Gisele several biological Activities tested and confirmed such as antimicrobial. The present study aims to evaluate the antibacterial activity of the monoterpene (S)-(-)-Citronelal against *Pseudomonas aeruginosa* strains. In the methodology, the serial microdilution technique was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC). In a 96-hole plate, Mueller Hinton broth was added, the monoterpene in the different concentrations and the inocúlo of the bacteria strains. The plates were incubated at 37 ° C for 24-48 hours. After reading the MIC, aliquots of 20 µL were removed from each well that did not present bacterial growth, and transferred to Wells of a new plaque, devoid of any antimicrobial, was aseptic closed and incubated at 35 °c, and the CBMs were Recorded after 48 hours. It was also performed the minimum adhesion inhibitory concentration (MICA), through a simulation, *in vitro*, of the dental biofilm. The results obtained for the monoterpene tested were MIC equal to 512 µg/mL, thus presenting a strong antibacterial effect, but not presented MBC values and proved effective in inhibiting adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to a concentration of 1:8. Based on the results it is concluded that the Monoterpene (S)-(-)-Citronelal has an effective bacteriostatic and non-adherent effect on the strains of *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: Phytotherapy, Microbiology, Terpeno, *Pseudomonas aeruginosa*, Dentistry.

LISTA DE TABELA

ARTIGO

- TABELA 1.** Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL do monoterpeno (S)-(-)-citronelal contra diferentes cepas de *Pseudomonas aeruginosa*..... 21
- TABELA 2.** Concentração Bactericida Mínima (CBM) em µg/mL do monoterpeno (S)-(-)-citronelal contra diferentes cepas de *Pseudomonas aeruginosa*..... 22
- TABELA 3.** Dados comparativos da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do monoterpeno (S)-(-)-citronelal e o Digluconato de clorexidina a 0,12%, contra *Pseudomonas aeruginosa*..... 23

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	09
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
REFERÊNCIAS.....	14
3. ARTIGO.....	17
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
ANEXO.....	28

1. INTRODUÇÃO

O biofilme é formado por um ou mais micro-organismos envolvidos em uma matriz polimérica extracelular, aderido a uma superfície. Os biofilmes apresentam uma composição heterogênea, configurando uma estrutura complexa de microcolônias e canais que permitem fluxo de fluidos e nutrientes. As bactérias são capazes de aderir a superfícies bióticas e abióticas (FREITAS; SAND; SIMONETTI, 2010).

As infecções bucais induzidas por biofilme incluem cárie, doença periodontal, infecções endodônticas e peri-implantares. Tais doenças podem influenciar a qualidade de vida, a saúde sistêmica e os custos financeiros com tratamentos (CARVALHO, 2018). Como os biofilmes bacterianos são altamente resistentes à terapia antibacteriana convencional, tem sido difícil combater essas infecções (CARVALHO, 2017).

De acordo com Alves (2017) dentre as inúmeras bactérias envolvidas nos estudos de biofilme, destacam-se a *Pseudomonas aeruginosa*, bacilo gram-negativo, geralmente encontrado em altas proporções no biofilme subgingival de indivíduos com periodontite e no interior do canal radicular, constituindo uma espécie bacteriana resistente a muitos antibióticos, além de apresentar a capacidade de secretar diferentes enzimas extracelulares e toxinas patogênicas. Tal bactéria faz parte da microbiota humana, mas comporta-se como um patógeno oportunista, especialmente em indivíduos com comprometimento imunológico.

A resistência de microrganismos patogênicos tem aumentado devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, comumente comercializados e usados no tratamento de doenças infecciosas. Com isso surge a crescente procura de novas drogas de origem natural ou sintética pela comunidade científica. Desta forma, o uso de produtos naturais na Odontologia constitui uma alternativa viável e eficaz na prevenção e combate de diversas patologias da cavidade oral. Estes produtos naturais têm sido recentemente investigados como agentes utilizados para prevenção de doenças (LOBO et al., 2015).

Dentro dessa perspectiva, Alves (2014) relatou os óleos essenciais como misturas de compostos aromáticos voláteis produzidos durante o metabolismo secundário das plantas. Estes compostos estão relacionados com os mecanismos

de defesa natural da planta, e possuem diversas propriedades terapêuticas tais como as atividades antibacterianas, antifúngicas, antivirais, antiparasitárias, antitoxigênicas, antissépticas, anestésicas, tornando-os também importantes fontes de novos fármacos.

Os monoterpenos, que são os principais constituintes da maioria dos óleos essenciais, compreendem uma série ampla de substâncias naturais e/ou sintéticas que já apresentaram diversas atividades biológicas testadas e confirmadas tais como: fungicida (CÁRDENAS-ORTEGA et al., 2005) e bactericida (CRISTANI et al., 2007).

Portanto, pesquisas com produtos naturais são importantes, com destaque aos metabólitos secundários das plantas como o citronelal e seus enantiômeros pertencentes ao grupo dos monoterpenos. Estes são importantes componentes dos óleos essenciais de plantas dos gêneros *Cymbopogon*, *Eucalyptus*, *Melissa*, *Mentha*, *Allium* e *Cinnamomum* que apresentam vasta atividade terapêutica (MEDEIROS et al., 2018).

Frente ao exposto, considerando o potencial terapêutico dos monoterpenos e a importância do combate as infecções causadas pelas bactérias multirresistentes, esse trabalho inovador procura avaliar a possível atividade antibacteriana e antiaderente *in vitro* do monoterpeno (S)-(-)-citronelal contra as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A cavidade oral sofre contínua colonização apresentando uma vasta microbiota. Nela se encontra praticamente a metade da microbiota presente no corpo humano, representada por várias espécies de bactérias, fungos e vírus. Entretanto, no ambiente bucal, são encontradas superfícies duras, não descamativas, como esmalte, cimento, próteses, entre outros, que favorecem o desenvolvimento de grandes depósitos de microrganismos, o biofilme, que pode servir de reservatório permanente de microrganismos, ocasionando infecção à distância (MORAIS et al., 2010). O biofilme apresenta um crescimento contínuo, sendo considerado a principal causa das doenças cárie e periodontal, infecções peri-implantares e estomatites (ETO; RASLAN; CORTELLI, 2008).

Conforme Silva (2016) o controle do biofilme pode ocorrer de forma mecânica, com a realização de profilaxia profissional para sua remoção, ou com a escovação diária que promoverá desorganização nesse aglomerado celular. Entretanto, quanto mais evoluído o biofilme, maior é sua organização, bem como o número de espécies microbianas, existindo entre elas maior interação e mais dificilmente o biofilme conseguirá ser removido ou desorganizado. Sendo necessário o emprego de substâncias para controle químico do biofilme, tendo atividade antimicrobiana e antiaderente, principalmente.

Alterações no hospedeiro como a redução de saliva e de imunoglobulinas, interações físico-químicas entre enzimas e microorganismos, níveis elevados de enzimas proteases e neuraminidases devido à higienização bucal precária e gengivites podem promover a colonização da cavidade bucal por microrganismos superinfectantes, como as bactérias entéricas. A *Pseudomonas aeruginosa*, pode também colonizar o biofilme dental, a saburra lingual e o tubo orotraqueal em indivíduos imunossuprimidos hospitalizados (SALDANHA et al., 2015).

Os processos infecto-inflamatórios no periodonto podem conduzir ao estabelecimento de gengivite e/ou periodontite, que pode ter relação de risco para doenças como diabetes, doenças cardiovasculares, parto pré-maturo, endocardite bacteriana, pneumonia, dentre outras. A *pseudomonas sp.* representa 70% das

infecções no ser humano, tem como principal espécie a *Pseudomonas aeruginosa* que é considerado um microrganismo oportunista e pode causar diversos processos patológicos (SEMENOFF; SEMENOFF-SEGUNDO; BIASOLI, 2008).

A *Pseudomonas aeruginosa* encontra-se entre as principais bactérias causadoras de infecções hospitalares, perdendo apenas para o *Staphylococcus coagulase negativa* e o *Staphylococcus aureus*. Relatos de redução da susceptibilidade da *Pseudomonas aeruginosa* aos antimicrobianos vêm sendo publicados no Brasil e em outros países destacando-se a diminuição de sensibilidade aos antibióticos de maior espectro de ação como os carbapenêmicos e as cefalosporinas anti-pseudomonas (FIGUEIREDO et al., 2007). A importância clínica da infecção por *Pseudomonas aeruginosa* caracteriza-se pela expressão de múltipla resistência a antibacterianos associada a uma difícil erradicação da doença, consequentemente com elevados índices de morbidade e mortalidade (NEVES et al., 2011).

Com o uso indiscriminado de agentes antimicrobianos, durante as últimas décadas, tido como um dos principais fatores agravantes do problema de resistência microbiana. O risco de tratar infecções resistentes vem motivando ações de diversas fontes na busca de formas de tratamento e de evitar disseminação de cepas resistentes, como o uso de plantas medicinais tanto para a obtenção de formulações fitoterápicas com este potencial, como para auxiliar na ação dos antimicrobianos (BARBOSA, 2014).

Além do avanço na comprovação científica da eficácia e da segurança das plantas medicinais, e a constatação que a utilização da terapêutica centrada no uso de medicamentos sintéticos não cumpriu a promessa implícita e explícita no tratamento das doenças, pelos altos custos, pelos significativos efeitos adversos que têm os medicamentos sintéticos, pelos resultados nem sempre satisfatórios, o que tem levado a buscar formas alternativas de tratamento menos agressivas (DE FIGUEREDO; GURGE; JUNIOR, 2014).

Dentre os produtos naturais, os óleos essenciais consistem na forma de apresentação que concentra a maior quantidade de fitoconstituintes com propriedades biológicas ativas (FREIRE et al., 2014). Possuem uma atividade antimicrobiana contra um grande número de bactérias incluindo espécies resistentes

a antibióticos e antifúngicos. Podem apresentar ação tanto contra bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas e ainda leveduras e fungos filamentosos. Ainda que indústrias farmacêuticas venham produzindo um número de novos antibióticos nas últimas três décadas, tem aumentado a resistência de microrganismos para essas drogas (BERTINI et al., 2005).

O citronelal (3,7-dimetil-oct-6-enal) é um monoterpene, predominantemente formado pelo metabolismo secundário de plantas, considerado o principal componente nas misturas de compostos químicos terpenoides. Além disso, encontra-se como uma das substâncias majoritárias de óleos essenciais de plantas aromáticas, como as do Gênero *Cymbopogon* e *Eucalyptus*. Este vem revelando ter diversas atividades, dentre elas, podemos exemplificar além do potencial antimicrobiano, ação alelopática, antioxidante, herbicida e atividade inseticida e repelente (PONTES et al., 2018).

De acordo com Victoria (2010) o citronelal é tipicamente isolado como uma mistura não-racêmica dos enantiômeros R e S por destilação com arraste de vapor ou extração por solventes dos óleos de *Corymbia citriodora*, *Java citronela* e *Cymbopogon nardus*. Alternativamente é também encontrado em outros 50 óleos essenciais; juntamente com citral, geranial, linalol e citronelol, sendo o citronelal um dos mais importantes monoterpenos.

Apesar dos óleos essenciais contendo citronelal serem bastante utilizados para tratar diferentes condições patológicas de populações disseminadas em todo o mundo, como América do Sul e Ásia, as suas propriedades, em especial antibacteriana dos seus enantiômeros, ainda são pouco estudadas (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010).

REFERÊNCIAS

- ALVES, F. C. B. **Ação antibacteriana de associações de antimicrobianos: nisina, óleos essenciais e compostos majotitários**. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2014.
- ALVES, R. A. H. **Triagem fitoquímica e ação antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Spondias mombin* L. frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, a *Pseudomonas aeruginosa* e a *Escherichia coli***. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.
- BARBOSA, A. S. **Atividade moduladora de extratos de plantas medicinais sobre a resistência de cepas de *Staphylococcus aureus* à eritromicina**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.
- BERTINI, L. M., et al. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. **Infarma**, v. 17, n. 3-4, p. 80-83, 2005.
- CÄRDENAS-ORTEGA, N. C., et al. Chemical composition and antifungal activity of essential oil of /Mexicana Gray. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 53, p. 4347–4349, 2005.
- CARVALHO, I. H. G. **Ação antimicrobiana do extrato de *Lycium barbarum* frente a microrganismos superinfetantes do ambiente bucal**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.
- CARVALHO, P. A. A. doença periodontal como fator de risco para a pneumonia nosocomial. **International Journal of Science Dentistry**, v. 2, n. 48, 2018.
- CRISTANI, M., et al. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 55, n. 15, p. 6300–6308, 2007.

DE FIGUEREDO, C. A.; GURGE, I. G. D.; JUNIOR, G. D. G. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis-Revista de Saúde Coletiva**, v. 24, n. 2, p. 381-400, 2014.

ETO, F. S.; RASLAN, S. A.; CORTELLI, J. R. Características microbianas na saúde e doença periodontal. **Revista biociências**, v. 9, n. 2, p. 45-51, 2008.

FIGUEIREDO, E. A. P., et al. *Pseudomonas aeruginosa*: frequency of resistance to multiple drugs and cross-resistance between antimicrobials in Recife/PE. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 19, n. 4, p. 421-427, 2007.

FREITAS, V. R.; SAND, S. T. V.; SIMONETTI, A. B. Formação *in vitro* de biofilme por *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* na superfície de canetas odontológicas de alta rotação. **Rev. odontol. UNESP (Online)**, v. 39, n. 4, p. 193-200, 2010.

LOBO, P. L. D., et al. Atividade Farmacológica do Óleo Essencial de *Lippia sidoides* em Odontologia: Uma Revisão de Literatura. **Saúde e Pesquisa**, v. 8, n. 2, p. 373-378, 2015.

MEDEIROS, C. I. S., et al. Atividade anti-*Candida tropicalis* dos enantiômeros (R)-(+)-& (S)-(-)-citronelal em associação com nistatina. **Archives of Health Investigation**, v. 7, n. 1, p. 40-43, 2018.

MORAIS, T. M. N., et al. A importância da atuação odontológica em pacientes internados em unidade de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 18, n. 4, p. 412-417, 2010.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresour Technology**, v.101, n. 1, p.372–378, 2010.

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.

PONTES, M. A. N., et al. Efeito Inibitório de monoterpenos frente a *Klebsiella pneumoniae* produtoras de ESBL. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 22, n. 1, p. 51-56, 2018.

SALDANHA, K. F. D., et al. A odontologia hospitalar: revisão. **Archives of Health Investigation**, v. 4, n. 1, p. 58-68, 2015.

SEMENOFF, T. A. D. V.; SEMENOFF-SEGUNDO, A.; BIASOLI, E. R. Efetividade antimicrobiana in vitro de enxaguatórios bucais frente aos microorganismos *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. **Revista Odonto Ciencia**, v. 23, n. 4, p. 351-354, 2008.

SILVA, N. B. da. **Efeito do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. no controle químico do biofilme dentário.** Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

VICTORIA, F. N. **Novos Compostos Organosselênio Bioativos: Estudo da Ação Antimicrobiana Frente à Patógenos de Importância em Alimentos.** Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

3. ARTIGO



Revista da Universidade Vale do Rio Verde
ISSN: 1517-0276 / EISSN: 2236-5362
v. 16 | n. 1 | Ano 2018

Raquel Vieira Bezerra

Acadêmica do curso de Odontologia da
Universidade Federal de Campina Grande
raqquelvieir62@gmail.com

Abraão Alves de Oliveira Filho

Professor doutor do curso de Odontologia da
Universidade Federal de Campina Grande
abrahao.farm@gmail.com.br

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO MONOTERPENO (S)-(-)-CITRONELAL CONTRA CEPAS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

RESUMO

O uso de produtos naturais na Odontologia constitui uma alternativa viável e eficaz na prevenção e combate de diversas patologias da cavidade oral, destacando-se o citronelal e seus enantiômeros pertencentes ao grupo dos monoterpenos, proveniente do metabolismo secundário das plantas. Este composto já apresentou diversas atividades biológicas testadas e confirmadas tais como antimicrobiana. O presente estudo objetiva avaliar a atividade antibacteriana do monoterpeno (S)-(-)-citronelal contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Na metodologia utilizou-se a técnica de microdiluição seriada para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM). Em uma placa de 96 orifícios, foi adicionado caldo Mueller Hinton, o monoterpeno nas diferentes concentrações e o inocúlo das cepas bacterianas. As placas foram incubadas a 37°C durante 24-48 horas. Após a leitura da CIM, alíquotas de 20 µL foram retiradas de cada poço que não apresentou crescimento bacteriano, e transferidas para poços de uma nova placa, desprovidas de qualquer antimicrobiano, foi assepticamente fechada e incubada a 35 °C, e as CBMs foram registradas após 48 horas. Foi também realizado a Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA), através de uma simulação, *in vitro*, do biofilme dental. Os resultados obtidos para o monoterpeno testado foi de CIM igual à 512 µg/mL, apresentando assim efeito antibacteriano forte, porém não apresentou valores de CBM e mostrou-se efetivo na inibição de aderência da *Pseudomonas aeruginosa* até uma concentração de 1:8. Com base nos resultados conclui-se que o monoterpeno (S)-(-)-citronelal possui efeito bacteriostático e antiaderente efetiva sobre as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Palavras-chave: Fitoterapia. Microbiologia. Terpeno. *Pseudomonas aeruginosa*. Odontologia.

EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE MONOTERPENE (S)-(-)-CITRONELAL AGAINST *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* STRAINS

ABSTRACT

The use of natural products in dentistry constitutes a viable and effective alternative in the prevention and combat of various pathologies of the oral cavity, highlighting the O and its enantiomers belonging to the group of Monoterpenes, derived from the metabolism Secondary plants. This compound already Gisele several biological Activities tested and confirmed such as antimicrobial. The present study aims to evaluate the antibacterial activity of the monoterpene (S)-(-)-Citronelal against *Pseudomonas aeruginosa* strains. In the methodology, the serial microdilution technique was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC). In a 96-hole plate, Mueller Hinton broth was added, the monoterpene in the different concentrations and the inocúlo of the bacteria strains. The plates were incubated at 37 ° C for 24-48 hours. After reading the MIC, aliquots of 20 µL were removed from each well that did not present bacterial growth, and transferred to Wells of a new plaque, devoid of any antimicrobial, was aseptic closed and incubated at 35 °c, and the CBMs were Recorded after 48 hours. It was also performed the minimum adhesion inhibitory concentration (MICA), through a simulation, *in vitro*, of the dental biofilm. The results obtained for the monoterpene tested were MIC equal to 512 µg/mL, thus presenting a strong antibacterial effect, but not presented MBC values and proved effective in inhibiting adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to a concentration of 1:8. Based on the results it is concluded that the Monoterpene (S)-(-)-Citronelal has an effective bacteriostatic and non-adherent effect on the strains of *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: Phytotherapy. Microbiology. Terpeno. *Pseudomonas aeruginosa*. Dentistry.

Recebido em: XX/XX/XXXX - Aprovado em: XX/XX/XXXX - Disponibilizado em: XX/XX/XXXX

1. INTRODUÇÃO

O biofilme é formado por um ou mais micro-organismos envolvidos em uma matriz polimérica extracelular, aderido a uma superfície. Os biofilmes apresentam uma composição heterogênea, configurando uma estrutura complexa de microcolônias e canais que permitem fluxo de fluidos e nutrientes. As bactérias são capazes de aderir a superfícies bióticas e abióticas (FREITAS; SAND; SIMONETTI, 2010).

As infecções bucais induzidas por biofilme incluem cárie, doença periodontal, infecções endodônticas e peri-implantares. Tais doenças podem influenciar a qualidade de vida, a saúde sistêmica e os custos financeiros com tratamentos (CARVALHO, 2018). Como os biofilmes bacterianos são altamente resistentes à terapia antibacteriana convencional, tem sido difícil combater essas infecções (CARVALHO, 2017).

De acordo com Alves (2017) dentre as inúmeras bactérias envolvidas nos estudos de biofilme, destacam-se a *Pseudomonas aeruginosa*, bacilo gram-negativo, geralmente encontrado em altas proporções no biofilme subgingival de indivíduos com periodontite e no interior do canal radicular, constitui uma espécie bacteriana resistente a muitos antibióticos, e apresenta a capacidade de secretar diferentes enzimas extracelulares e toxinas patogênicas. Tal bactéria faz parte da microbiota humana, mas comporta-se como um patógeno oportunista, especialmente em indivíduos com comprometimento imunológico.

A resistência de microrganismos patogênicos tem aumentado devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, comumente comercializados e usados no tratamento de doenças infecciosas. Com isso surge a crescente procura de novas drogas de origem natural ou sintética pela comunidade científica. Desta forma, o uso de produtos naturais na Odontologia constitui uma alternativa viável e eficaz na prevenção e combate de diversas patologias da cavidade oral. Estes produtos naturais têm sido recentemente investigados como agentes utilizados para prevenção de doenças (LOBO et al., 2015).

Dentro dessa perspectiva, Alves (2014) relatou os óleos essenciais como misturas de compostos aromáticos voláteis produzidos durante o metabolismo secundário das plantas. Estes compostos estão relacionados com os mecanismos de defesa natural da planta, e possuem diversas propriedades terapêuticas tais como as atividades antibacterianas, antifúngicas, antivirais, antiparasitárias, antitoxigênicas,

antissépticas, anestésicas, tornando-os também importantes fontes de novos fármacos.

Os monoterpenos, que são os principais constituintes da maioria dos óleos essenciais, compreendem uma série ampla de substâncias naturais e/ou sintéticas que já apresentaram diversas atividades biológicas testadas e confirmadas tais como: fungicida (CÁRDENAS-ORTEGA et al., 2005) e bactericida (CRISTANI et al., 2007).

Portanto, pesquisas com produtos naturais são importantes, com destaque aos metabólitos secundários das plantas como o citronelal e seus enantiômeros pertencentes ao grupo dos monoterpenos. Estes são importantes componentes dos óleos essenciais de plantas dos gêneros *Cymbopogon*, *Eucalyptus*, *Melissa*, *Mentha*, *Allium* e *Cinnamomum* que apresentam vasta atividade terapêutica (MEDEIROS et al., 2018).

Frente ao exposto, considerando o potencial terapêutico dos monoterpenos e a importância do combate as infecções causadas pelas bactérias multirresistentes, esse trabalho inovador procura avaliar a possível atividade antibacteriana e antiaderente *in vitro* do monoterpeno (S)-(-)-citraonal contra as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

2. METODOLOGIA

2.1 Ensaios *in vitro*

2.1.1 Substâncias-teste

O monoterpeno (S)-(-)-citraonal foi adquirido da Indústria Sigma-Aldrich® (São

Paulo-SP). Para a realização dos ensaios farmacológicos, a substância foi solubilizada em DMSO e diluída em água destilada. A concentração de DMSO (dimetilsulfóxido) utilizada foi inferior a 0,1% v/v.

2.1.2 Espécies Bacterianas e Meio de cultura

Foram utilizadas as seguintes bactérias de origem clínica: *Pseudomonas aeruginosa* (Pa 101, Pa 102, Pa 103, Pa 104 e Pa 105). Todas as cepas foram mantidas em meio Ágar Muller Hinton (AMH) a uma temperatura de 4 °C, sendo utilizados para os ensaios repiques de 24 horas em AMH incubados a 35 °C. No estudo da atividade antimicrobiana foi utilizado um inóculo bacteriano de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL padronizado de acordo com a turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER; 2000).

2.1.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima do monoterpeno foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000). Foi utilizada uma placa de 96 orifícios estéril e com tampa. Em cada orifício da placa, foram adicionados 100 µL do meio líquido caldo Muller Hinton duplamente concentrado. Em seguida, 100 µL da emulsão do monoterpeno na concentração inicial de 2048 µg/mL, foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada em razão de dois, foram obtidas as concentrações de 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8 e 4 µg/mL, de modo que na primeira linha da placa encontra-se

a maior concentração e na última, a menor concentração. Por fim, foram adicionados 10 µL do inóculo de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL das espécies bacterianas nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se a uma cepa de bactéria, especificamente.

Paralelamente, um controle de microorganismo foi realizado colocando-se nas cavidades 100 µL do mesmo caldo Muller Hinton duplamente concentrado, 100 µL de água destilada estéril e 10 µL do inóculo de cada espécie. Para verificar a ausência de interferência nos resultados pelos solventes utilizados na preparação da emulsão, no caso o DMSO, foi feito um controle no qual foram colocados nas cavidades 100 µL do caldo duplamente concentrado, 100 µL de DMSO e 10µL da suspensão bacteriana. Um controle de esterilidade do meio também foi realizado, onde foi colocado 200 µL do caldo Muller Hinton em um orifício sem a suspensão das bactérias. O antimicrobiano utilizado na execução dos testes como controle positivo foi o cloranfenicol, adquirido da Sigma-Aldrich® (São Paulo-SP).

A placa foi assepticamente fechada e incubada a 35°C por 24 - 48 horas para ser realizada a leitura. A CIM para o monoterpeno foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento bacteriano verificado nos orifícios quando comparado com o crescimento controle. O experimento foi realizado em duplicata.

2.1.4 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

A concentração bactericida mínima (CBM) do monoterpeno também foi determinada

para as cepas de bactérias. Após a leitura da CIM em 48 horas, alíquotas de 20 µL foram retiradas de cada poço da placa de microtitulação que não apresentaram crescimento bacteriano, e transferidas para poços de uma nova placa de microtitulação contendo 100 µL de caldo Muller Hinton, desprovidas de qualquer antimicrobiano. A placa inoculada foi assepticamente fechada e incubada a 35 °C, e as CBMs foram registradas após 48 horas. A CBM foi definida como a menor concentração do monoterpene que resultou em inibição visível do crescimento do micro-organismo (NCUBE; AFOLAYANA; OKOH, 2008; GUERRA et al., 2012).

2.1.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA)

A Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do monoterpene foi determinada na presença de sacarose a 5%, de acordo com Gerbara, Zardetto e Mayer (1996), usando-se concentrações correspondentes ao monoterpene puro 1:1 até a diluição 1:1024. A partir do crescimento bacteriano, a cepa de *Pseudomonas aeruginosa* escolhida foi cultivada a 37°C em caldo Mueller-Hinton (DIFCO, Michigan, Estados Unidos), depois foram distribuídos 0,9 mL do subcultivo em tubos de

ensaio e, em seguida, adicionado 0,1 mL da solução correspondente às diluições do monoterpene. A incubação foi feita a 37°C por 24 horas com tubos inclinados a 30°. A leitura foi realizada através da observação visual da aderência da bactéria às paredes do tubo, após a agitação do mesmo. O ensaio foi realizado em duplicata. O mesmo procedimento foi realizado para o controle positivo, o digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard®, Colgate-Palmolive Company, Nova York, EUA). Foi considerada a CIMA a menor concentração do monoterpene em sacarose que impediu a aderência da bactéria ao tubo de vidro.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) em meio líquido foi determinada para o monoterpene (S)-(-)-citronelal nas diferentes concentrações sugeridas na metodologia e determinada pela menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento bacteriano, conforme apresentado na tabela 1. Observa-se que os resultados obtidos para o monoterpene testado foi de uma CIM de 512 µg/mL.

Tabela 1. Concentração Inibitória Mínima (CIM) em µg/mL do monoterpene (S)-(-)-citronelal contra diferentes cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Cepa bacteriana/ Substância	<i>P. aeruginosa</i> 101	<i>P. aeruginosa</i> 102	<i>P. aeruginosa</i> 103	<i>P. aeruginosa</i> 104	<i>P. aeruginosa</i> 105
1024 µg/mL	+	+	+	+	+
512 µg/mL	+	+	+	+	+
256 µg/mL	-	-	-	-	-

128 µg/mL	-	-	-	-	-
64 µg/mL	-	-	-	-	-
32 µg/mL	-	-	-	-	-
16 µg/mL	-	-	-	-	-
8 µg/mL	-	-	-	-	-
4 µg/mL	-	-	-	-	-
Controle positivo	+	+	+	+	+
Controle negativo	-	-	-	-	-

(-) sem inibição (+) inibição **Fonte:** Autoria Própria

Segundo Sartoratto et al. (2004), a atividade antimicrobiana é classificada como forte quando possuem CIM de até 500 µg/mL, moderada para CIM de 600 a 1500 µg/mL e fraca para CIM acima de 1500 µg/mL. De acordo com os resultados o monoterpeneo (S)-(-)-citronelal demonstrou forte atividade antibacteriana sobre as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, visto que obteve CIM₁₀₀(Concentração Inibitória Mínima capaz de inibir o crescimento de 100% das cepas) de 512 mg/mL.

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi determinada a partir da menor concentração do monoterpeneo que resultou em inibição visível do crescimento do microorganismo. De acordo com a tabela 2, observa-se que não foi possível identificar a CBM para o (S)-(-)-citronelal, pois todas as cepas cresceram na presença da concentração de 1024 µg/mL, maior concentração testada.

Tabela 2. Concentração Bactericida Mínima (CBM) em µg/mL do monoterpeneo (S)-(-)-citronelal contra diferentes cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Cepa bacteriana/ Substância	<i>P. aeruginosa</i> 101	<i>P. aeruginosa</i> 102	<i>P. aeruginosa</i> 103	<i>P. aeruginosa</i> 104	<i>P. aeruginosa</i> 105
1024 µg/mL	-	-	-	-	-
512 µg/mL	-	-	-	-	-
Controle positivo	+	+	+	+	+
Controle negativo	-	-	-	-	-

(-) sem inibição (+) inibição **Fonte:** Autoria Própria

Para um composto ser considerado bactericida ou bacteriostático a Concentração Bactericida Mínima (CBM) deve ser igual ou duas vezes mais que a CIM ou a CBM deve ser

maior que duas vezes o CIM, respectivamente (HAFIDH et al., 2011). Considerando os resultados da CBM o monoterpeneo (S)-(-)-

citronelal possui efeito bacteriostático sobre as cepas *Pseudomonas aeruginosa*.

A Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) foi determinada para o monoterpeno (S)-(-)-citronelal nas diferentes concentrações sugeridas na metodologia e definida pela menor concentração do agente em

sacarose que impediu visualmente a aderência da bactéria ao tubo de vidro, conforme apresentado na tabela 3. Observa-se que o monoterpeno testado inibiu a aderência da *Pseudomonas aeruginosa* até a concentração de 1:8, possuindo o potencial antiaderente maior do que o digluconato de clorexidina a 0,12%, que impediu a aderência até a concentração de 1:4.

Tabela 3. Dados comparativos da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do monoterpeno (S)-(-)-citronelal e o Digluconato de clorexidina a 0,12%, contra *Pseudomonas aeruginosa*.

Cepa bacteriana/Substância	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 104
(S)-(-)-citronelal	1:8
Digluconato de clorexidina a 0,12%	1:4

Fonte: Autoria Própria

Nesse contexto, muitas pesquisas buscam a prospecção e identificação de compostos bioativos naturais, como o monoterpeno citronelal formado predominantemente pelo metabolismo secundários das plantas, geralmente encontrado como uma mistura não racêmica dos enantiômeros R e S, e está associado à diversas propriedades farmacológicas, incluindo atividade antimicrobiana significativa (FERRAZ et al., 2017).

Siqueira et al. (2019) constataram, em seu experimento, atividade bacteriostática do monoterpeno (S)-(-)-citronelal contra *Escherichia coli*, sendo considerado promissor para o tratamento de muitas doenças causadas pela bactéria. Em outro estudo de Siqueira et al. (2019), o (S)-(-)-citronelal demonstrou atividade antimicrobiana, com efeito bacteriostático contra *Staphylococcus aureus*, tornando-se um potencial

antibacteriano para o combate de infecções, por exemplo, em casos de reinfecções endodônticas.

Em adição, no estudo de Bezerra et al. (2019) o (S)-(-)-citronelal apresentou forte potencial antimicrobiano, constituindo uma alternativa terapêutica para o combate de infecções causadas por algumas bactérias do gênero *Bacillus*. Frente ao exposto, o presente estudo confirma o potencial antimicrobiano do monoterpeno (S)-(-)-citronelal, além de evidenciar uma atividade sobre a aderência bacteriana maior do que o digluconato de clorexidina a 0,12% contra a *P. aeruginosa*.

Atualmente os esforços para o controle do biofilme abrem novas perspectivas no uso de terapias alternativas. Diversos produtos de origem natural apresentam resultados significativos sobre patógenos bucais e controle da resposta inflamatória mostrando que agentes

fitoterápicos podem ser veículos de prevenção e controle de doenças bucais infecciosas assim como uma opção eficaz para superar a resistência microbiana (HUACHO; MILAGROS, 2018)

A clorexidina tem sido frequentemente relatada na literatura científica, enquanto outras substâncias são pouco exploradas, como é o caso dos produtos naturais (ALMEIDA, 2006). Esta é uma das substâncias mais eficazes e seguras, que embora seja um excelente antimicrobiano, seus efeitos colaterais fazem seu uso prolongado não recomendado. Assim, há a necessidade de desenvolver substâncias igualmente eficazes, mas sem esses efeitos adversos (ALBUQUERQUE et al., 2013) que incluem: alteração na coloração nos elementos dentários, restaurações, próteses e língua, formação de cálculo supragengival, alterações no paladar, queimaduras no tecido mole, dor, xerostomia, e gosto residual desagradável na boca (PEGORARO et al., 2015).

A *Pseudomonas aeruginosa* apresenta muitas propriedades de virulência, incluindo a capacidade de produzir e secretar enzimas extracelulares e toxinas para aderir e formar biofilmes em tecidos e superfícies abióticas, bem como apresentar resistência a muitos antibióticos. Está espécie pode se disseminar para locais distantes do corpo, aumentando o risco de doenças infecciosas sistêmicas, como pneumonia bacteriana, infecções pulmonares, meningite, diarreia e infecções nosocomiais notórias, com taxas de mortalidade de 20 a 60% (SOUTO; SILVA-BOGHOSSIAN; COLOMBO, 2014).

Dessa forma, cresce a procura por produtos naturais com atividade antibacteriana

para o combate de doenças que afetam o elemento dental, principalmente com o advento dos efeitos colaterais associados ao uso da clorexidina, que é designada como padrão ouro no controle do biofilme e de cepas multirresistentes a antibióticos (JUIZ; ALVES; BARROS, 2010).

4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o (S)-(-)-citronelal possui forte atividade antimicrobiana ou bacteriostática e ação antiaderente efetiva sobre as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados apresentados são bastante promissores uma vez que o monoterpeno demonstra potencial antibacteriano e antiaderente, o que gera perspectivas futuras para a continuidade deste estudo através de testes clínico-toxicológicos, incluindo testes *in vivo*.

5. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil. Agradeço aos meus colegas do grupo de pesquisa, ao PIBIC/UFCG, aos funcionários do laboratório de bioquímica da UFCG, onde este trabalho foi desenvolvido com todo apoio e dedicação, por fim ao meu orientador Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho, pela confiança e oportunidade de aprendizado repassado durante o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, A. C. L., et al. The anti-adherence effect of *Lippia sidoides* Cham: extract against microorganisms of dental biofilm. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 41-46, 2013.
- ALMEIDA, C. F. Medicinal plants popularly used in the Xingó region- a semi arid location in Northeastern Brasil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v.2, n.15, p.1-9, 2006.
- ALVES, F. C. B. **Ação antibacteriana de associações de antimicrobianos: nisina, óleos essenciais e compostos majotitários**. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2014.
- ALVES, R. A. H. **Triagem fitoquímica e ação antimicrobiana in vitro do extrato de *Spondias mombin* L. frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, a *Pseudomonas aeruginosa* e a *Escherichia coli***. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.
- BEZERRA, R. V., et al. Atividade antimicrobiana dos monoterpenos (R)-(+)-citronelal, (S)-(-)-citronelal e 7-hidroxicitronelal contra cepa de *Bacillus subtilis*. **REVISTA UNINGÁ**, v. 56, n. 2, p. 62-69, 2019.
- CÄRDENAS-ORTEGA, N. C., et al. Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *I Mexicana* Gray. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 53, p. 4347–4349, 2005.
- CARVALHO, I. H. G. **Ação antimicrobiana do extrato de *Lycium barbarum* frente a microrganismos superinfetantes do ambiente bucal**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.
- CARVALHO, P. A. A doença periodontal como fator de risco para a pneumonia nosocomial. **International Journal of Science Dentistry**, v. 2, n. 48, 2018.
- CLEELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials *in vitro* and in experimental animal infections. In: Lorian, V. M. D. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. New York: Willians & Wilkins, p. 739-788, 1991.
- CRISTANI, M., et al. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for Their antibacterial activity. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 55, n. 15, p. 6300–6308, 2007.
- FERRAZ, M., et al. Synthesis, Antimicrobial, and Antioxidant Activities of Chalcogen-Containing Nitrene Derivatives from (R)-citronellal. **Medicines**, v. 4, n. 2, p. 39, 2017.
- FREITAS, V. R.; SAND, S. T. V.; SIMONETTI, A. B. Formação in vitro de biofilme por *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* na superfície de canetas odontológicas de alta rotação. **Rev. odontol. UNESP (Online)**, v. 39, n. 4, p. 193-200, 2010.
- GERBARA, E. C. E.; ZARDETTO, C. G. C.; MAYER, M. P. A. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. **Revista de Odontologia da USP**, v. 10, n. 4, p.251-256, 1996.
- GUERRA F. Q. S., et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cinnamomum zeylanicum* blume essential oil on multi-drug resistant *Acinetobacter spp.* strains . **Revista de Biologia e Farmacia**, v. 8, n. 1, p. 62-70, 2012.
- HAFIDH, R. R., et al. Inhibition of Growth of Highly Resistant Bacterial and Fungal Pathogens by a Natural Product. **Open Microbiol J**, v. 5, n.1, p. 96-106, 2011.
- HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparatibility of results and assay choice. **Phytochemical Analyses**, v.11, n. 3, p. 137-147, 2000.
- HUACHO, M.; MILAGROS, P. **Descontaminação de superfícies de titânio com Terpinen-4-ol e Carvacrol: estudo in vitro das propriedades físico-química, antimicrobiana e citotóxica**. Tese (Doutora em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2018.
- JUIZ, P. J. L.; ALVES, R. J. C.; BARROS, T. F. Uso de produtos naturais como coadjuvante no tratamento da doença periodontal. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 1, p. 134-139, 2010.
- LOBO, P. L. D., et al. Atividade Farmacológica do Óleo Essencial de *Lippia sidoides* em

Odontologia: Uma Revisão de Literatura. **Saúde e Pesquisa**, v. 8, n. 2, p. 373-378, 2015.

MEDEIROS, C. I. S., et al. Atividade anti-*Candida tropicalis* dos enantiômeros (R)-(+)-& (S)-(-)-citronelal em associação com nistatina. **Archives of Health Investigation**, v. 7, n. 1, p. 40-43, 2018.

MORAIS, T. M. N., et al. A importância da atuação odontológica em pacientes internados em unidade de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 18, n. 4, p. 412-417, 2010.

NCUBE N. S.; AFOLAYAN A. J.; OKOH A. I. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 12, p.1797-1806, 2008.

PEGORARO, J., et al. Efeitos adversos do gluconato de clorexidina à 0, 12%. **Journal of Oral Investigations**, v. 3, n. 1, p. 33-37, 2015.

SARTORATTO A., et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Braz J Microbiol**, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2004.

SIQUEIRA, D. S., et al. Antibacterial Activity of Monoterpenes (R) - (+) - Citronellal and (S) - (-) - Citronellal against *Escherichia coli* Strains. **Ijppr.Human**, v. 15, n. 1, p. 314-323, 2019.

SIQUEIRA, D. S., et al. Comparação do efeito antibacteriano de (R)-(+)-citronelal e (S)-(-)-citronelal contra cepas de *Staphylococcus aureus*. **Braz. J. Surg. Clin. Res**, V. 27, n.1, p.28-32, 2019.

SOUTO, R.; SILVA-BOGHOSSIAN, C. M.; COLOMBO, A. P. V. Prevalência de *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp.* em biofilme subgengival e saliva de indivíduos com infecção periodontal crônica. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 45, n. 2, p. 495-501, 2014.

Raquel Vieira Bezerra

Acadêmica do curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande

Abrahão Alves de Oliveira Filho

Professor doutor do curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos, o monoterpeno (S)-(-)-citronelal pode ser considerado um forte inibidor ou bacteriostático frente às cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, e revelou também atividade antiaderente eficaz sobre a bactéria testada. Este monoterpeno pode ser considerado um recurso promissor para o tratamento de muitas enfermidades causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, no entanto faz-se necessário estudos mais aprofundados para elucidação de mecanismos e padrões de eficiência e eficácia.

Os resultados apresentados são bastante promissores uma vez que o monoterpeno demonstra potencial antibacteriano e antiaderente, o que gera perspectivas futuras para a continuidade deste estudo através de testes clínico-toxicológicos, incluindo testes *in vivo*.



Revista da Universidade Vale do Rio Verde
ISSN: 1517-0276 / EISSN: 2236-5362
v. 16 | n. 1 | Ano 2018

autor(a), negrito, Times New Roman, 10

Vinculação profissional, Times New Roman, 9

email@email.com, Times New Roman, 9

autor(a), negrito, Times New Roman, 10

Vinculação profissional, Times New Roman, 9

email@email.com, Times New Roman, 9

autor(a), negrito, Times New Roman, 10

Vinculação profissional, Times New Roman, 9

email@email.com, Times New Roman, 9

autor(a), negrito, Times New Roman, 10

Vinculação profissional, Times New Roman, 9

email@email.com, Times New Roman, 9

autor(a), negrito, Times New Roman, 10

Vinculação profissional, Times New Roman, 9

email@email.com, Times New Roman, 9

autor(a), negrito, Times New Roman, 10

Vinculação profissional, Times New Roman, 9

email@email.com, Times New Roman, 9

autor(a), negrito, Times New Roman, 10

Vinculação profissional, Times New Roman, 9

ANEXO

TÍTULO E SUBTÍTULO: FONTE TIMES NEW ROMAN, TAMANHO 14, EM CAIXA ALTA, NEGRITO E CENTRALIZADOS. DEVEM SER SEPARADOS ENTRE SI POR DOIS PONTOS

RESUMO

Times New Roman, tamanho 10, justificado, com espaçamento simples. Parágrafo único em português, com cerca de 150 a 250 palavras; cinco palavras-chave separadas por ponto e finalizadas por ponto.

Palavras-chave: Palavra 1. Palavra 2. Palavra 3. Palavra 4. Palavra 5.

TÍTULO E SUBTÍTULO EM INGLÊS: FONTE TIMES NEW ROMAN, TAMANHO 14, EM CAIXA ALTA, NEGRITO E CENTRALIZADOS. DEVEM SER SEPARADOS ENTRE SI POR DOIS PONTOS

ABSTRACT

Times New Roman, tamanho 10, justificado, com espaçamento simples. Parágrafo único em inglês, com cerca de 150 a 250 palavras; cinco keywords separadas por ponto e finalizadas por ponto.

Keywords: Keyword 1. Keyword 2. Keyword 3. Keyword 4. Keyword 5.

email@email.com, Times New Roman, 9

autor(a), negrito, Times New Roman, 10

Vinculação profissional, Times New Roman, 9

email@email.com, Times New Roman, 9

Recebido em: XX/XX/XXXX - Aprovado em: XX/XX/XXXX - Disponibilizado em: XX/XX/XXXX

1. INTRODUÇÃO

O artigo deve ser inédito, seguindo a linha editorial da Revista. Serão submetidos à apreciação do corpo editorial, com a omissão do nome do autor e dos avaliadores durante o processo *double blind review* (o autor não sabe quem é o avaliador e este também desconhece quem é o autor). Após o processo, caso haja necessidade, os avaliadores proporão alterações, visando à melhora do trabalho, com o objetivo de publicá-lo. Se as alterações forem demasiadas, os avaliadores podem rejeitar o artigo de maneira bem-fundamentada. Os originais não serão devolvidos. O trabalho dos autores e dos consultores não será remunerado.

A Revista é publicada em formato eletrônico (PDF), disponibilizado pela internet. O acesso aos artigos, resenhas, relatos de experiências e demais textos será permitido, não sendo autorizada qualquer comercialização e/ou alteração dos dados. Desse modo, os autores estão cientes da cessão de seus direitos autorais de publicação à Revista.

Os artigos devem ser elaborados em folha formato A4, margens superior, inferior, esquerda e direita de 2 cm, entrelinhas 1,5, Times New

Roman, tamanho 11, com exceção das ilustrações, tabelas, notas e citações diretas em recuo, cujas fontes devem apresentar tamanho 10. Entradas de parágrafo, 1,25, a partir da margem. O texto deve ser justificado. **Os artigos devem apresentar extensão mínima de 8 páginas e máxima de 10 páginas.**

A Introdução deve apresentar a delimitação do assunto, objetivos da pesquisa e outros elementos sobre o tema explanado.

O Desenvolvimento, parte principal do texto, apresenta de forma ordenada o assunto tratado. Pode ser dividido em seções e subseções, de acordo com o tema abordado.

As Considerações Finais abordam os resultados da pesquisa de forma a responder às questões apresentadas na introdução.

2. PÓS-TEXTUAIS

Nota(s) de rodapé: destinam-se a prestar esclarecimentos, tecer considerações, que não devem ser incluídas no texto, para não interromper a sequência lógica da leitura. Referem-se aos comentários e/ou observações pessoais do autor e são utilizadas para indicar dados relativos à comunicação pessoal.

As notas são reduzidas ao mínimo e situar no final da página. Para fazer a chamada das notas de rodapé, usam-se os algarismos arábicos, em negrito, sobrescrito, com numeração progressiva nas folhas.

Referências: devem ser colocadas ao final do trabalho, classificadas em ordem alfabética pelo sobrenome do autor, com alinhamento à margem esquerda, entrelinhas simples e espaçamento simples entre elas, observando-se a NBR 6023 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2002).

3. TABELAS, FIGURAS, GRÁFICOS

Ilustrações, tabelas, notas e citações diretas em recuo, fontes devem apresentar tamanho 10.

As imagens digitalizadas devem apresentar resolução de, no mínimo, 300 dpi. As ilustrações e tabelas devem ser numeradas de acordo com suas respectivas referências no corpo do texto, e os títulos, escritos sem abreviações, apresentando a fonte de referência em tamanho 10 e entrelinhas simples.

Todas as tabelas e ilustrações devem apresentar a fonte de origem dos dados. Evitar o uso de palavras como “abaixo”, “acima” para referir-se a tabelas e ilustrações. Faça, por exemplo: conforme Tabela 1; de acordo com o Gráfico 1.

Tabela 1 – Título da tabela 1

	xx		xx		xx		xx		xx	
	yy									
kkk	z	z	z	z	z	-	z	z	z	z
kkk	z	z	z	z	z	-	z	z	z	z
kkk	z	-	z	z	z	-	z	z	z	-
kkk	z	-	z	-	z	zz	z	z	-	-
TOTAL	zz	z	zz	zz	z	zz	z	z	z	z

Fonte: xxxx

Gráfico 1 – Título do gráfico 1



Fonte: xxxx

4. SEÇÃO PRIMÁRIA

As seções devem ser divididas em:

4.1 Seção Secundária

4.1.1 Seção terciária

4.1.1.1 Seção quaternária

4.1.1.1.1 Seção quíntaria

5. AGRADECIMENTOS (opcional)

Devem ser inseridos após a dedicatória. O autor agradece aos professores, empresas, instituições, laboratórios, etc, que colaboraram na elaboração do trabalho (é recomendado, pois demonstra reconhecimento da parte do autor).

REFERÊNCIAS

Para a lista de referências, elas devem ser apresentadas no final do trabalho, em espaçamento simples, em ordem alfabética de sobrenome do(s) autor(es).

Autor (a) negrito, Times New Roman, 10
Mini-currículo, Times New Roman, 10

Autor (a) negrito, Times New Roman, 10
Mini-currículo, Times New Roman, 10

Autor (a) negrito, Times New Roman, 10
Mini-currículo, Times New Roman, 10

Autor (a) negrito, Times New Roman, 10
Mini-currículo, Times New Roman, 10

Autor (a) negrito, Times New Roman, 10
Mini-currículo, Times New Roman, 10

Autor (a) negrito, Times New Roman, 10
Mini-currículo, Times New Roman, 10

Autor (a) negrito, Times New Roman, 10
Mini-currículo, Times New Roman, 10
