

Raquel Vieira Bezerra

Acadêmica do curso de Odontologia da
Universidade Federal de Campina Grande
raquielvieir62@gmail.com

Flávia Bruna Ribeiro Batista

Universidade Federal de Campina Grande
flaviabruna95@hotmail.com

José Lucas Soares Ferreira

Universidade Federal de Campina Grande
jlucas_sf@hotmail.com

Joyce Natiele Miranda Cavalcante

Universidade Federal de Campina Grande
joyce_natielle@hotmail.com

Daniele de Souza Siqueira

Universidade Federal de Campina Grande
danieleodonto13@gmail.com

Heloísa Mara Batista Fernandes de Oliveira

Universidade Federal do Rio Grande do Norte
heloisambf@gmail.com

Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz

Universidade Federal da Paraíba
margarethdiniz.ufpb@gmail.com

Hilzeth de Luna Freire Pêsoa

Universidade Federal da Paraíba
hilzeth@gmail.com

Abrahão Alves de Oliveira Filho

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. A placa foi incubada 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 CIM₁₀₀ 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 MIC₁₀₀ equal to 512 µg/mL, thus presenting a strong antibacterial effect, but not Gisele 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. Portanto, 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 monoterpene foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000). Foi utilizada uma placa de 96 orifícios estérel e com tampa. Em cada orifício da placa, foi adicionado 100 µL do meio líquido caldo Muller Hinton duplamente concentrado. Em seguida, 100 µL da emulsão do monoterpene 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, foi adicionado 10 µL do inóculo de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL das espécies bacterianas nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se a uma cepa de bactéria, especificamente.

Paralelamente, um controle de microorganismo foi realizado colocando-se nas cavidades 100 µL do mesmo caldo Muller Hinton duplamente concentrado, 100 µL de água

destilada estérel 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 monoterpene 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 monoterpene 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 monoterpeno 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 monoterpeno foi determinada na presença de sacarose a 5%, de acordo com Gerbara, Zardetto e Mayer (1996), usando-se concentrações correspondentes ao monoterpeno 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 monoterpeno. 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 monoterpeno 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 monoterpeno (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 monoterpeno testado foi de uma CIM de 512 µg/mL.

Tabela 1. Concentração Mínima Inibitória (CIM) em µg/mL do monoterpeno (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 micro-organismo. 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 monoterpeneo (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 2. Observa-se que o monoterpeneo 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 secundário 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 Sequeira 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. Esta 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 monoterpene 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 MIMBIN 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.

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, Paulo José Lima; ALVES, Reinaldo JC; BARROS, Tânia Fraga. 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.

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

Flávia Bruna Ribeiro Batista

Acadêmica do curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande

José Lucas Soares Ferreira

Graduado do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Joyce Natiele Miranda Cavalcante

Graduada do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Daniele de Souza Siqueira

Graduada do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

Heloísa Mara Batista Fernandes de Oliveira

Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz

Professora da Universidade Federal da Paraíba

Hilzeth de Luna Freire Pêsoa

Professora da Universidade Federal da Paraíba

Abraão Alves de Oliveira Filho

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