



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE – UFRN
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA – UFPB
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ – UFC
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO – UFRPE
PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO
TECNOLÓGICA
EM MEDICAMENTOS

CAROLINE UCHÔA SOUZA CARVALHO

**Avaliação antimicrobiana da associação de óleo essencial
de *Lippia sidoides* Cham. e antimicrobianos para
revestimento em fio de sutura cirúrgico absorvível**

JOÃO PESSOA-PB

2022

CAROLINE UCHÔA SOUZA CARVALHO

**Avaliação antimicrobiana da associação de óleo essencial
de *Lippia sidoides* Cham. e antimicrobianos para
revestimento em fio de sutura cirúrgico absorvível**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos como requisito para a obtenção do título de Doutor em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos. Área de concentração: Desenvolvimento de produtos e processos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio

JOÃO PESSOA-PB

2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C331a Carvalho, Caroline Uchôa Souza.

Avaliação antimicrobiana da associação de óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. e antimicrobianos para revestimento em fio de sutura cirúrgico absorvível / Caroline Uchôa Souza Carvalho. - João Pessoa, 2022. 137 f.

Orientação: Fábio Correia Sampaio.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Ação antimicrobiana. 2. Óleo essencial - *Lippia sidoides* Cham. 3. Fios de sutura - Revestimentos antimicrobianos. 4. Sítio cirúrgico - Contaminação. 5. Sítio cirúrgico - Infecções. I. Sampaio, Fábio Correia. II. Título.

UFPB/BC

CDU 615.33(043)

	UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM MEDICAMENTOS (UFRN/UEPB/UFRPE/UFC)	
---	---	---

Ata da vigésima quarta defesa de tese de doutorado no Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos de CAROLINE UCHÔA SOUZA CARVALHO, candidata ao Título de "Doutor" em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos/UEPB.

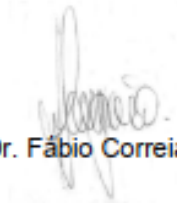
1 Às quatorze horas (14:00) do dia vinte e nove de abril do ano de dois mil e vinte dois
2 (29/04/2022), na sala virtual, reuniram-se em caráter de Solenidade pública os membros
3 da Comissão designada para examinar a aluna **CAROLINE UCHÔA SOUZA**
4 **CARVALHO**, candidata ao Título de "Doutor" em Desenvolvimento e Inovação
5 Tecnológica em Medicamentos. Foram componentes da Banca Examinadora os
6 Professores Doutores: Fábio Correia Sampaio (orientador), Barbara Viviana de Oliveira
7 Santos (examinadora interna), Reinaldo Nóbrega de Almeida (examinador interno),
8 Gessenildo Pereira Rodrigues (examinador externo-Faculdade Rebouças de Campina
9 Grande) e Paulo Cesar Dantas da Silva (examinador externo-UEPB). Dando início aos
10 trabalhos o presidente da banca, Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio, após declarar os
11 objetivos da reunião, apresentou a candidata, **CAROLINE UCHÔA SOUZA CARVALHO**,
12 a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema
13 apresentado e intitulado "**Desenvolvimento e avaliação antimicrobiana de solução**
14 **para incorporação em fio de sutura cirúrgico a base de óleo essencial de Lippia**
15 **sidoides Cham. associado à antimicrobianos**", título alterado após avaliação da banca
16 para, "**Avaliação antimicrobiana da associação de óleo essencial de Lippia sidoides**
17 **Cham. e antimicrobianos para revestimento em fio de sutura cirúrgico absorvível**".
18 Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de cinquenta minutos, a candidata foi
19 arguida pelos examinadores na forma Regimental. Em seguida passou a comissão, em
20 caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-
21 lhe o conceito APROVADO. Em face da aprovação declarou o presidente achar-se a
22 examinada, **CAROLINE UCHÔA SOUZA CARVALHO**, legalmente habilitada a receber o
23 Título de "Doutor" em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, área
24 Farmácia, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a
25 expedição do Diploma que o mesmo faz jus. Os trabalhos foram encerrados determinando
26 a leitura para fins de aprovação e a lavratura da presente ata devidamente assinada por
27 todos os membros da Banca Examinadora.

João Pessoa, em 29 de abril de 2022.

28 Às quatorze horas (14:00) do dia vinte e nove de abril do ano de dois mil e vinte dois
29 (29/04/2022), na sala virtual, reuniram-se em caráter de Solenidade pública os membros
30 da Comissão designada para examinar a aluna **CAROLINE UCHÔA SOUZA**
31 **CARVALHO**, candidata ao Título de "Doutor" em Desenvolvimento e Inovação
32 Tecnológica em Medicamentos. Foram componentes da Banca Examinadora os
33 Professores Doutores: Fábio Correia Sampaio (orientador), Barbara Viviana de Oliveira
34 Santos (examinadora interna), Reinaldo Nóbrega de Almeida (examinador interno),
35 Gessenildo Pereira Rodrigues (examinador externo-Faculdade Rebouças de Campina
36 Grande) e Paulo Cesar Dantas da Silva (examinador externo-UEPB). Dando início aos
37 trabalhos o presidente da banca, Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio, após declarar os
38 objetivos da reunião, apresentou a candidata, **CAROLINE UCHÔA SOUZA CARVALHO**,
39 a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema
40 apresentado e intitulado "**Desenvolvimento e avaliação antimicrobiana de solução**

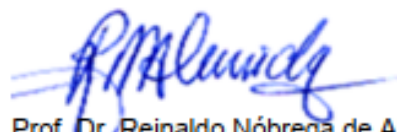
41 para incorporação em fio de sutura cirúrgico a base de óleo essencial de Lippia
42 sidoides Cham. associado à antimicrobianos". Após discorrer sobre o referido tema
43 durante cerca de cinquenta minutos, a candidata foi arguida pelos examinadores na forma
44 Regimental. Em seguida passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e
45 julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito APROVADO. Em face da
46 aprovação declarou o presidente achar-se a examinada, **CAROLINE UCHÔA SOUZA**
47 **CARVALHO**, legalmente habilitada a receber o Título de "Doutor" em Desenvolvimento e
48 Inovação Tecnológica em Medicamentos, área Farmácia, cabendo a Universidade
49 Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que o mesmo
50 faz jus. Os trabalhos foram encerrados determinando a leitura para fins de aprovação e a
51 lavratura da presente ata devidamente assinada por todos os membros da Banca
52 Examinadora.

João Pessoa, em 29 de abril de 2022.


Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio (presidente)

Documento assinado digitalmente
 BARBARA VIVIANA DE OLIVEIRA SANTOS
Data: 17/05/2022 16:30:26-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.^a Dr.^a Barbara Viviana de Oliveira Santos (Examinadora Interna)


Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida (Examinador Interno)


Prof. Dr. Gessenildo Pereira Rodrigues (Examinador Externo)


Prof. Dr. Paulo Cesar Dantas da Silva (Examinador Externo)
CPF: 051.194.894-86

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PARAÍBA

REITOR

Prof. Dr. Valdiney Veloso Gouveia

VICE-REITOR

Profa. Dra. Liana Filgueira Albuquerque

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Valdir de Andrade Braga

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. João Euclides Fernandes Braga

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Fabiano Gonzaga Rodrigues

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM MEDICAMENTOS**

Profa. Dra. Hilzeth de Luna Freire Pessoa

Aos meus pais, Cecilia e Antônio (*in memoriam*),
que me permitam o aprendizado da vida
e o pertencimento de que nasci onde precisava.

Ao meu irmão Diego, que me faz enxergar
que não preciso estar só diante das dificuldades.

Ao meu esposo Daniel, por me aceitar
e colaborar para minha evolução.

As minhas amigas, Aline, Carolina, Cris e Liliane,
por me proporcionarem o sentimento de família,
mesmo quando não se possui laços de sangue.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado forças para não desistir, mesmo com tantos percalços e dificuldades, fui apresentada a resiliência. Deus sempre me mostrou que muitas batalhas iriam apenas me fortalecer, não me deixou distrair-me do trabalho a que me propus, me centralizou no dever a cumprir, não me deixando espelhar em minhas atitudes o reflexo da amargura. “Entrega teu caminho ao Senhor; confia nele, e o mais ele fará”.

Aos meus pais Cecília e Antônio (*in memoriam*), pela oportunidade de estar aqui, por me ensinarem que pertencemos a planos superiores com o intuito de sempre nos tornarmos seres humanos melhores. Sobretudo, agradeço a minha mãe por sempre acreditar que eu era capaz, me mostrando que eu poderia realizar qualquer feito ao qual eu me dedicasse. Obrigada!!

Ao meu irmão Diego, por me dar a certeza de que mesmo em um turbilhão de obstáculos, posso ter o acalento de um companheiro, alguém para dividir o “fardo”.

Ao me esposo Daniel, simplesmente por não desistir de nós, por entender muitas vezes as situações intrincadas que estes anos trouxeram e quantas lutas tive que travar para estar concluindo este grande feito.

As minhas amigas Aline, Carolina, Cris e Liliane, “a família que escolhi”, por me mostrarem que o amor pode surgir em laços que optamos por trançar, o amor certamente é o sentimento que nos une...

Ao meu orientador, Professor Dr. Fábio Sampaio, por aceitar me orientar mesmo em momento tão inoportuno. Gratidão aos ensinamentos, paciência e por acreditar em mim. Sua generosidade, tranquilidade, serenidade e humanidade fez a caminhada possível e me fez enxergar o que seria um verdadeiro mestre! Você recobrou minha fé de que ciência pode ser realizada por seres humanos!! Pretendo continuar em sua companhia por muito tempo!

A minha coorientadora Patrícia Maria de Freitas por todas as orientações e ensinamentos. Tive muita sorte de encontrar uma pessoa tão alto-astrol como você, detentora de tanto conhecimento!

Agradeço aos que fizeram parte da execução do projeto. Agradeço a Augusto, técnico do laboratório de Microbiologia da UEPB, por toda ajuda e colaboração.

Agradeço também a Alexandre, técnico do Labial, por toda paciência e auxílio todas as vezes que necessitei.

A Lília, pelos momentos partilhados, conversas e ajuda prestada sempre que solicitei. Neste momento de pandemia, agradeço por você ter me feito companhia e também por tudo que fez por mim.

A professor Raimundo, pela colaboração com a elaboração da patente.

A Michelline Cavalcanti, pelo companheirismo nas aulas do DITM, paciência e palavras de conforto, muitas vezes você me acalmou em momentos tão críticos.

A Alessandra Estevam, pelo coleguismo e orientações sempre que solicitei.

Aos professores do Programa de Desenvolvimento e Inovação Tecnológica de Medicamentos pela dedicação e conhecimento compartilhado.

A todos os colegas do curso de Doutorado, pela convivência, pela troca de experiências e pelos momentos compartilhados.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

Em todos os caminhos da vida, encontrarás obstáculos a superar. Se assim não fosse, como provarias a ti mesmo a sinceridade dos teus propósitos de renovação? Aceita as dificuldades com paciência, procurando guardar contigo as lições de que se façam portadoras. Com todos temos algo de bom para aprender e em tudo temos alguma coisa de útil para assimilar. Nada acontece por acaso e, embora te pareça o contrário, até mesmo o mal permanece a serviço do bem. A resignação tem o poder de anular o impacto do sofrimento. Se recebes críticas ou injúrias, não te aflijas pela resposta verbal aos teus adversários. Muitas vezes, os que nos acusam desejam apenas distrair-nos a atenção do trabalho a que nos dedicamos, fazendo-nos perder preciosos minutos em contendas estéreis. Centraliza-te no dever a cumprir, refletindo que toda semente exige tempo para germinar. Toda vitória se fundamenta na perseverança e sem espírito de sacrifício ninguém concretiza seus ideais. Busca na oração coragem para superar os percalços exteriores da marcha, e humildade para vencer os entraves do teu mundo interior. Aceita os outros como são a fim de que te aceitem como és, porquanto, de todos os patrimônios da vida, nenhum se compara à paz de quem procura fazer sempre o melhor, embora consciente de que esse melhor ainda deixe muito a desejar”.

Chico Xavier, pelo espírito André Luiz

RESUMO

A resistência bacteriana é considerada um problema de saúde pública mundial, ocorrendo quando são dispensados cuidados de saúde aos pacientes. As Infecções de Sítio Cirúrgico (ISCs) caracterizam-se pela infestação microbiana em feridas provenientes de procedimentos cirúrgicos, onde o ato de suturar objetiva reparar tecidos e impedir que patógenos possam contaminar o local, no entanto, pode vir a ser a própria fonte de infecção. Dentre os materiais utilizados, os fios de sutura revestidos com antimicrobianos podem reduzir a contaminação em sítio cirúrgico, indicando que são opções terapêuticas para reduzir índices de infecções em feridas. O presente estudo teve como objetivo desenvolver um novo revestimento para fios de sutura de poliglactina, utilizando associações do óleo essencial da planta *Lippia sidoides* Cham. (OELS) com os antimicrobianos ciprofloxacino e ampicilina. Com o intuito de obter associações sinérgicas entre o óleo e os antimicrobianos, foi realizado o teste de Concentração inibitória fracionada CIF (*checkerboard*) e, para avaliação da atividade antimicrobiana em modelo de biofilme bacteriano, foi utilizada a técnica de Cristal Violeta. As associações demonstraram sinergismo, além da capacidade em inibir o crescimento bacteriano e redução na formação de biofilme. As concentrações sinérgicas foram utilizadas para produzir uma solução de revestimento para fio de sutura de poliglactina. O fio revestido foi posteriormente testado quanto ao crescimento de biofilme bacteriano em sua superfície, apresentando resultados positivos em relação a redução do crescimento microbiano, quando comparado ao Vicryl Plus®, único fio revestido com substância antimicrobiana no mercado atualmente. O fio de sutura com OELS demonstrou ser uma alternativa terapêutica para um novo produto com propriedade de redução de crescimento microbiano e, por conseguinte, reduzir os riscos de Infecções de Sítio Cirúrgico (ISCs).

Palavras chaves: *Lippia sidoides* Cham.; sinergismo; antimicrobianos; redução de infecção de sítio cirúrgico.

ABSTRACT

Bacterial resistance is considered a worldwide public health problem, occurring when health care is provided to patients. Surgical Site Infections (SSIs) are characterized by microbial infestation in wounds from surgical procedures, where the act of suturing aims to repair tissues and prevent pathogens from contaminating the site, however, it can become the source of infection itself. Among the materials used, suture threads coated with antimicrobials can reduce contamination in the surgical site, indicating that they are therapeutic options to reduce rates of wound infections. The present study aimed to develop a new coating for polyglactin suture threads, using associations of essential oil from the plant *Lippia sidoides* Cham. (OELS) with the antimicrobials ciprofloxacin and ampicillin. In order to obtain synergistic associations between oil and antimicrobials, the CIF Fractional Inhibitory Concentration test (*checkerboard*) was performed and, for the evaluation of antimicrobial activity in a bacterial biofilm model, the Crystal Violet technique was used. The associations demonstrated synergism, in addition to the ability to inhibit bacterial growth and reduce biofilm formation. The synergistic concentrations were used to produce a coating solution for polyglactin suture. The coated wire was later tested for the growth of bacterial biofilm on its surface, showing positive results in relation to the reduction of microbial growth, when compared to Vicryl Plus®, the only wire coated with an antimicrobial substance on the market today. The suture thread with OELS proved to be a therapeutic alternative for a new product with the property of reducing microbial growth and, therefore, reducing the risks of Surgical Site Infections (SSIs).

Key words: *Lippia sidoides* Cham; synergistic; antimicrobials; surgical site infection reduction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Formação de biofilme bacteriano.....	35
Figura 2 - Molécula de ampicilina.....	47
Figura 3 - Molécula de ciprofloxacino.....	49
Figura 4 - Estruturas químicas do timol e carvacrol.....	55
Figura 5 - Imagem de <i>Lippia sidoides</i> Cham. (Alecrim pimenta).....	56
Figura 6 - Classificação dos fios de sutura.....	62
Figura 7 - Estrutura multifilamentar e monofilamentar de fios de sutura.....	62
Figura 8 – Placa de microtitulação ilustrando o experimento de CIM.....	71
Figura 9 - Placa ilustrando o experimento de <i>checkerboard</i>	72
Figura 10 – Placa de microtitulação representando o experimento de formação de biofilme pela técnica Cristal de Violeta	75
Figura 11 - Fio imerso em solução de revestimento.....	76
Figura 12 – Placa de 24 poços contendo inóculo bacteriano fio incorporado e controles positivo e negativo.....	77
Figura 13 - Cromatograma do OELS (Janeiro/2016) por CG-EM.....	78

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Interpretação de resultados para as concentrações inibitórias fracionadas (ICIFs).....	73
--	----

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1 - Composição química do óleo essencial de <i>L. sidoides</i> Cham. extraído no mês de janeiro de 2016. Componentes listados em ordem de eluição.....	78
Tabela 2 - Atividades antimicrobianas do OELS, ampicilina e ciprofloxacino pelo método de microdiluição, representadas através da concentração inibitória mínima (CIM).....	79
Tabela 3 - Atividades antimicrobianas do OELS, ampicilina e ciprofloxacino, reduzidas após o teste de <i>checkerboard</i> , valores utilizados para calcular as CIFs e classificá-las como sinérgicas.....	82
Tabela 4 - Concentrações de OELS/ampicilina µg/mL na placa teste de formação de biofilme pela cepa <i>S. aureus</i>	93
Tabela 5 - Concentrações de OELS/ciprofloxacino µg/mL na placa teste de formação de biofilme pela cepa <i>S. aureus</i>	93
Tabela 6 - Concentrações de OELS/ampicilina µg/mL na placa teste de formação de biofilme pela cepa <i>E. coli</i>	95
Tabela 7 - Concentrações de OELS/ciprofloxacino µg/mL na placa teste de formação de biofilme pela cepa <i>E. coli</i>	95
Tabela 8 - Concentrações de OELS/ampicilina µg/mL na placa teste de formação de biofilme pela cepa <i>P. aeruginosa</i>	97
Tabela 9 - Concentrações de OELS/ciprofloxacino µg/mL na placa teste de formação de biofilme pela cepa <i>P. aeruginosa</i>	97
Gráfico 1 - Formação de biofilme pela cepa <i>S. aureus</i> em presença do OELS em concentrações decrescentes.....	86
Gráfico 2 - Formação de biofilme pela cepa <i>S. aureus</i> em presença do antimicrobiano ampicilina em concentrações decrescentes.....	87
Gráfico 3 - Formação de biofilme pela cepa <i>S. aureus</i> em presença do antimicrobiano ciprofloxacino em concentrações decrescentes.....	88
Gráfico 4 - Formação de biofilme pela cepa <i>E. coli</i> em presença de OELS em concentrações decrescentes.....	89

Gráfico 5 - Formação de biofilme pela cepa <i>E. coli</i> em presença do antimicrobiano ampicilina em concentrações decrescentes.....	89
Gráfico 6 - Formação de biofilme pela cepa <i>E. coli</i> em presença do antimicrobiano ciprofloxacino em concentrações decrescentes.....	90
Gráfico 7 - Formação de biofilme pela cepa <i>P. aeruginosa</i> em presença de OELS em concentrações decrescentes.....	91
Gráfico 8 - Formação de biofilme pela cepa <i>P. aeruginosa</i> em presença do antimicrobiano ampicilina em concentrações decrescentes.....	91
Gráfico 9 - Formação de biofilme pela cepa <i>P. aeruginosa</i> em presença do antibiótico ciprofloxacino em concentrações decrescentes.....	92
Gráfico 10 - Gráfico gerado pelas médias dos valores de absorbância no experimento de crescimento de biofilme bacteriano (<i>S. aureus</i>) em presença de OELS/ampicilina.....	94
Gráfico 11 - Gráfico gerado pelas médias dos valores de absorbância no experimento de crescimento de biofilme bacteriano (<i>S. aureus</i>) em presença de OELS/ciprofloxacino.....	95
Gráfico 12 - Gráfico gerado pelas médias dos valores de absorbância no experimento de crescimento de biofilme bacteriano (<i>E. coli</i>) em presença de OELS/ampicilina.....	96
Gráfico 13 - Gráfico gerado pelas médias dos valores de absorbância no experimento de crescimento de biofilme bacteriano (<i>E. coli</i>) em presença de OELS/ciprofloxacino.....	96
Gráfico 14 – Gráfico gerado pelas médias dos valores de absorbância no experimento de crescimento de biofilme bacteriano (<i>P. aeruginosa</i>) em presença de OELS/ampicilina.....	98
Gráfico 15 - Gráfico gerado pelas médias dos valores de absorbância no experimento de crescimento de biofilme bacteriano (<i>P. aeruginosa</i>) em presença de OELS/ciprofloxacino.....	98
Gráfico 16 - Gráfico representando o crescimento bacteriano de <i>S. aureus</i> na superfície de fio de poliglactina incorporado com OELS em associação com antimicrobianos.....	100

Gráfico 17 - Gráfico representando o crescimento bacteriano de *E. coli* na superfície de fio de poliglactina incorporado com OELS em associação com antimicrobianos.....101

Gráfico 18 - Gráfico representando o crescimento bacteriano de *P. aeruginosa* na superfície de fio de poliglactina incorporado com OELS em associação com antimicrobianos.....101

ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Acetil-CoA - acetilcoenzima A

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AMP - ampicilina

ATCC – American Type Culture Collection

ATP- trifosfato de adenosina

BHI - Brain Heart Infusion I

CG – Cromatografia gasosa

CG - EM – Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas

CoA – coenzima A

CIF – Concentração Inibitória Fracionada

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CIP – ciprofloxacino

CV – Cristal Violeta

d – densidade

DNA - ácido desoxirribonucleico

DPOC - Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

EPS – exopolissacarídeos

ESBL - Extended Spectrum Beta Lactamase

FDA - Food and Drug Administration

CIF - Concentração Inibitória Fracionária

ICIF – Índice da Concentração Inibitória Fracionada

IPeFarM – Instituto de Pesquisa em fármacos e Medicamentos

IRAS- Infecções Relacionadas à Saúde

ISC- Infecção de Sítio Cirúrgico

ISCs – Infecções de Sítio Cirúrgico

ITU – infecções de trato urinário

LABIAL - Laboratório de Biologia Bucal

LPS - lipopolissacarídeos

CIM – Concentração Inibitória Mínima

mL – mililitro

MRSA - *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

NAD - nicotinamida adenina dinucleotídeo

OE – óleo essencial

OELS- óleo essencial de *Lippia sidoides*

OMS- Organização Mundial da Saúde

PLP – proteína de ligação à penicilina

RENISUS – Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde

RNAr – ácido ribonucleico ribossômico

UDP - difosfato de uridina

UFC – Unidades Formadoras de Colônia

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

μL – microlitro

μg – micrograma

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
2. OBJETIVOS	25
2.1 Objetivo geral	25
2.2 Objetivos específicos	25
3. REFERENCIAL TEÓRICO	26
3.1 Resistência bacteriana à antimicrobianos	26
3.1.1 Alterações no DNA bacteriano	29
3.1.2 Inativação enzimática	31
3.1.3 Efluxo de fármaco para fora da célula bacteriana	33
3.2 Biofilme bacteriano	33
3.3 Infecções de sítio cirúrgico (ISCs)	39
3.4 Bactérias e ISCs	42
3.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	44
3.4.2 <i>Escherichia coli</i>	44
3.4.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
3.5 Agentes antimicrobianos e sua utilização	46
3.5.1 Ampicilina	46
3.5.2 Ciprofloxacino	49
3.6 Produtos naturais e atividade antibacteriana	52
3.6.1 Propriedades antimicrobianas do óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham.	52

3.7 Sinergismo entre antimicrobianos e produtos naturais	56
3.8 Fios de sutura e revestimentos antimicrobianos	60
4. MATERIAIS E MÉTODOS	67
4.1 Obtenção do óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham. (OELS)	67
4.2 Caracterização do OELS	68
4.3 Avaliação da composição química do OELS	68
4.4 Testes de avaliação da atividade antimicrobiana	69
4.4.1 Materiais e microrganismos	69
4.4.2 Cultivo e preparação do inóculo para os testes microbiológicos	69
4.4.3 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)	70
4.4.3.1 Ensaio de microdiluição para determinação da CIM	70
4.4.4 Concentração inibitória fracionada CIF (<i>checkerboard</i>)	72
4.4.5 Determinação de biofilme bacteriano pela técnica de Cristal Violeta	73
4.4.6 Desenvolvimento de solução antimicrobiana para revestimento em fio de sutura cirúrgico	75
4.4.6.1 Formação de biofilme em fio de sutura revestido.....	76
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
5.1 Caracterização do OELS	77
5.2 Avaliação da composição química do OELS	77
5.3 Testes de avaliação da atividade antimicrobiana	79
5.3.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)	79
5.3.2 Concentração inibitória fracionada CIF (<i>checkerboard</i>)	81

5.3.3 Determinação de biofilme bacteriano pela técnica de Cristal Violeta (CV)	85
5.3.3.1 Determinação de biofilme bacteriano pela técnica de Cristal Violeta na presença das substâncias de maneira isolada	85
5.3.3.2 Determinação de biofilme bacteriano pela técnica de Cristal Violeta com OELS associado aos antimicrobianos	93
5.3.4 Determinação da formação de biofilme em fio de sutura revestido	99
6. CONCLUSÃO	105
REFERÊNCIAS	106

1. INTRODUÇÃO

Desde o século passado, hospitais e todos os procedimentos nele executados, foram constantes fontes de preocupações, principalmente devido às infecções que ocorriam neste ambiente, arriscando a vida de pacientes e da população no geral (BHATTACHARYA, 2017). As infecções bacterianas continuam sendo um assunto atual, consistindo em um problema de saúde pública mundial.

Em conceitos atuais temos as Infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS), infecções que transcenderam o ambiente hospitalar, ocorrendo em ambientes onde sejam dispensados atendimentos à saúde dos pacientes (SHARMA, SHABIR, 2017). Segundo a portaria Nº 2616/1998, as IRAS podem ser adquiridas cerca de 48 a 72 horas após o contato do paciente com o processo ou estadia nosocomial, não estando compreendido o período de incubação, estas infecções podem ser registradas durante a internação ou após alta do estabelecimento de saúde (BRASIL, 1998).

Com o advento da pandemia do SARS-CoV-2 foi emitida a nota técnica GVIMS/GGTES/ANVISA Nº 04/2020, contendo orientações sobre os serviços de saúde no que concerne à prevenção e controle de transmissão da infecção causada pelo coronavírus, renovando a importância de medidas de prevenção e controle direcionadas aos microrganismos (BRASIL, 2021).

Dentre as IRAS temos a subdivisão das Infecções de Sítio Cirúrgico (ISCs), caracterizadas pela infestação microbiana em feridas provenientes de procedimentos cirúrgicos, uma complicação corriqueira em procedimentos desta estirpe (SENGUPTA *et al.*, 2014; SIEVERT *et al.*, 2013). O processo infeccioso normalmente inicia-se com bactérias provenientes da microbiota da pele, patógenos presentes no ambiente do estabelecimento onde o procedimento está sendo realizado, materiais utilizados, ou até mesmo, provenientes das mãos dos profissionais de saúde (CHAMBLESS; HUNT; STEWART, 2006; MANDAKHALIKAR, *et al.*, 2016).

Os microrganismos e gêneros mais encontrados em feridas de origem de sítio cirúrgico são; *Staphylococcus aureus* (SENGUPTA *et al.*, 2014; SIEVERT *et al.*, 2013), seguido de *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Staphylococcus* coagulase negativa, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus*, *Enterococcus*, *Citrobacter*, *Acinetobacter spp.* e *Klebsiella spp* (SENGUPTA *et al.*, 2014; SOTO, 2014; TAMBYAH; OON, 2012), além de também serem encontradas Enterobactérias produtoras de enzimas de resistência,

como ESBL (Extended Spectrum Beta Lactamase) e carbapenemases (CHANG, *et al.*, 2011; NICOLLE, 2014).

O procedimento de sutura é comumente aplicado em diversos procedimentos cirúrgicos, tendo como finalidades principais reparar os tecidos e impedir que patógenos possam contaminar o local. No entanto, o material de sutura funciona como um corpo estranho podendo potencializar o processo de infecção. O tipo de material utilizado, a adesão bacteriana tanto no material quanto no tecido lesado leva a complicações de grande importância clínica (GOEL, 2016; MASINI *et al.*, 2011). Devido a problemática da adesão bacteriana em fios de sutura, e com o objetivo de reduzir a incidência de infecção em sítios cirúrgicos, novos revestimentos antibacterianos têm sido desenvolvidos por pesquisadores em todo o mundo (GUO *et al.*, 2016; OBERMEIER *et al.*, 2015, PELZ; TODTMANN; OTTEN, 2015; WU *et al.*, 2017).

A resistência bacteriana vem se agravando devido ao uso indiscriminado de medicamentos antimicrobianos. Muitos destes fármacos já demonstram ineficácia contra diversos patógenos. Os antimicrobianos betalactâmicos são exemplos desta perda de eficiência e apesar de seu uso amplo ao longo do tempo, ainda são os mais prescritos na clínica, devido a sua fácil disponibilidade, segurança e eficácia comprovada (LEE *et al.*, 2014). Outra classe são as quinolonas, representantes de espectro ampliado, abrangendo patógenos gram-positivos e gram-negativos, com potência elevada, mas que devido ao uso frequente, já demonstra indícios de resistência além de registros de reações adversas.

Nas últimas décadas, houve uma tendência em buscar novas substâncias em fontes naturais, principalmente em espécies de plantas, caracterizando uma alternativa para os tratamentos usualmente empregados (HEMAISWARYA; KRUTHIVENTI; DOBLE, 2008). As plantas medicinais podem representar uma alternativa de substituição ou melhora na eficácia aos antimicrobianos comumente utilizados, fornecendo subsídios para evitar o desenvolvimento de resistência bacteriana, devido à diversidade de mecanismos de ação dos metabólitos, além de apresentarem uma menor incidência de efeitos colaterais e toxicidade (SANTOS *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2007).

Lippia sidoides Cham., conhecida popularmente como “Alecrim-pimenta”, vem demonstrado atividades efetivas frente a microrganismos patológicos, sobretudo na área odontológica e dermatológica. O óleo essencial extraído desta planta foi

amplamente caracterizado, demonstrando alto potencial antimicrobiano (GIRÃO *et al.*, 2003).

Uma metodologia comumente utilizada em tratamentos de quadros infecciosos é a associação entre compostos, as razões para associar dois agentes antimicrobianos são diversas, mas basicamente busca-se o sinergismo entre eles, onde um pode potencializar o efeito do outro aumentando a eficácia e reduzindo uma possível toxicidade (AGBOKE; ESIMONE, 2011; LEWIS *et al.*, 2002).

A associação entre compostos naturais e antimicrobianos vem sendo testada em diferentes experimentos que abrangem uma diversidade de espécies vegetais (FADLI *et al.*, 2011; KNEZEVIC *et al.*, 2016). Os óleos essenciais vêm se destacando em associações sinérgicas que possuem como vantagem apresentarem risco reduzido para o desenvolvimento de resistência microbiana. Combinações entre óleos essenciais e antimicrobianos tendem a reduzir as concentrações destes medicamentos, favorecendo o uso clínico destes agentes oferecendo uma alternativa para o controle de microrganismos multirresistentes (BARRETO *et al.*, 2014; GUTIERREZ; BARRY-RYAN; BOURKE GUTIERREZ *et al.*, 2008; KASRATI *et al.*, 2014).

Desta forma, o presente trabalho propôs desenvolver soluções com ação antimicrobiana destinadas para o revestimento de fio de sutura cirúrgico de poliglactina, utilizando para este fim, a associação do óleo essencial da planta *Lippia sidoides* Cham. com os antimicrobianos ampicilina e ciprofloxacino, avaliando a atividade antimicrobiana frente aos microrganismos patogênicos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Produzir e avaliar *in vitro*, soluções para revestimento com ação antimicrobiana destinadas à fio de sutura, elaboradas a partir da associação do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (OELS) com os antimicrobianos ampicilina e ciprofloxacino.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (OELS) para cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*;
- Avaliar os efeitos inibitórios na ação microbiana da associação do óleo essencial com os antimicrobianos, ampicilina e ciprofloxacino, utilizando as técnicas de *Checkerboard* e Cristal Violeta, para as cepas *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*;
- Revestir o fio de poliglactina com as soluções resultantes da associação do OELS e antimicrobianos em diferentes concentrações;
- Avaliar o efeito antibacteriano *in vitro* do fio revestido com as soluções antibacterianas em meios de cultura contendo *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Resistência bacteriana à antimicrobianos

A luta da humanidade contra as infecções bacterianas vem desde os primeiros conhecimentos e registros nessa área, sendo inerente ao seu surgimento. As tentativas de descoberta de compostos químicos que exercessem efeito contrário a estes microrganismos vêm de longa data, e como uma das primeiras descobertas temos o elemento arsênico, que em 1910 fez parte da composição do que podemos chamar do primeiro antibiótico de origem sintética, o salvarsan®, usado no tratamento da doença sífilis, desenvolvido por Ehrlich (AMINOV, 2017).

Mais conhecido por todos, o notório pesquisador, Alexander Fleming, descobriu a penicilina de forma acidental e, apesar de toda a fama, inicialmente o composto não foi de muita utilidade para os tratamentos clínicos, devido a problemas como baixo rendimento na produção, instabilidade do produto, dificuldades de purificação dentre outros percalços. O próprio Fleming participou de forma ativa, junto com outros pesquisadores, das resoluções dos problemas de produção da penicilina, até que em 1940, um grupo de Oxford tendo como líderes Howard Florey e Ernest Chain, publicaram procedimentos de purificação e melhorias para o rendimento na produção que desta forma pode ter seu uso difundido. A Segunda Guerra Mundial, que se estendeu até meados da década de 40, popularizou o tratamento com este fármaco, transformando-o em um tratamento que salvou muitas vidas de soldados em conflito.

A penicilina tornou-se assim, um antibiótico de larga empregabilidade para tratamento de doenças que antes não possuíam opções eficientes, além de produzir menos efeitos colaterais. Consequentemente, a mortalidade por doenças como pneumonia e tuberculose declinou consideravelmente (AMINOV, 2017).

Com as descobertas de novos compostos com atividade antimicrobiana, a exemplo das sulfonamidas e estreptomicina, houve uma verdadeira revolução nos tratamentos clínicos, melhorando irrefutavelmente a qualidade de vida dos indivíduos (AMINOV, 2017).

Pode-se afirmar, que a história de resistência bacteriana aos antimicrobianos surge a partir da descoberta da penicilina em 1928, e desde esta época, Fleming já alertava da possibilidade de resistência das bactérias em relação a estes compostos (FLEMING, 1929). A amplificação deste efeito de resistência ocorreu ainda mais

quando o uso dos antibióticos ultrapassou a cura de infecções em organismos humanos, passando a ser utilizado para cura de organismos animais, agricultura e aplicação industrial (HELKE *et al.*, 2017).

O uso disseminado de antimicrobianos na água e produção de alimentos, promoveu o contato entre estes fármacos e seres humanos desde o nascimento, onde muitas vezes, recém-nascidos já apresentam cepas bacterianas resistentes, formando uma flora microbiana humana com essa característica desde tenra idade (ECONOMOU; GOUSIA, 2015; KOTHARI, *et al.*, 2013).

Sendo assim, populações de microrganismos comensais presentes nos seres humanos incluem espécies naturalmente resistentes, selecionadas quando utilizamos estes medicamentos indiretamente ou de forma equivocada, reduzindo drasticamente a capacidade de tratamento de doenças infecciosas aumentando a capacidade das bactérias sobreviverem aos tratamentos (COSTA, 2016).

A origem majoritária dos antimicrobianos é natural, em sua maioria são compostos produzidos por microrganismos, como fungos ambientais e bactérias saprófitas. A partir destes compostos naturais é possível realizar várias modificações semi-sintéticas, surgindo classes derivadas onde seus representantes possuem uma origem totalmente laboratorial (ZATORSKI *et al.*, 2016).

Nos últimos anos houve um crescimento vertiginoso na resistência microbiana aos tratamentos farmacológicos utilizados na clínica, elevando significativamente a morbidade, mortalidade e necessidade de cuidados em saúde o que gera altos custos com tratamentos que poderiam ser gastos em novas tecnologias ou ampliação da rede assistencial (PATRIDGE *et al.*, 2018).

O problema se agrava em países onde não há controle efetivo das prescrições destes fármacos, demonstrando um uso de maneira não racional, onde muitas vezes são adquiridos sem prescrição elaborada por um profissional habilitado, além de objetivos terapêuticos equivocados (OKEKE *et al.*, 2005; AYUKEKBONG; NTEMGWA; ATABE, 2017).

Mesmo tratamentos acompanhados por profissionais habilitados podem gerar resistência, primariamente por uma seleção errônea do fármaco realizada frequentemente de forma empírica, onde o medicamento não é indicado para cepa patogênica especificamente. Em vários episódios o microrganismo já apresenta resistência no início do esquema terapêutico, ou não é adequado o uso de antimicrobiano para a infecção apresentada. Outra motivação seria a não adesão da

terapia por parte dos pacientes, seja por esquecimento de tomar doses programadas, suspensão do tratamento devido aos efeitos colaterais, ou mesmo, deixando de concluir a terapia por conta própria, quando há melhora no quadro clínico da doença (FRIERI; KUMAR; BOUTIN, 2017).

Atualmente o que se observa é a falta de fármacos que sejam eficientes quando se trata de quadros clínicos infecciosos com complicações relacionadas à resistência bacteriana. Há uma escassez de novas moléculas provenientes da própria indústria, privando o mercado de novas alternativas terapêuticas, os representantes mais modernos são de amplo espectro e muitas vezes não apresentam nenhuma eficiência na erradicação de uma infecção em curso, levando pesquisadores de todo o mundo a buscar o entendimento dos mecanismos desempenhados pelas bactérias para garantir sua patogenicidade (PÉREZ-CANO; ROBLES-CONTRERAS, 2013).

Observa-se que quanto mais se detalhar os mecanismos que conferem resistência, aumentam-se as possibilidades de novas descobertas científicas no combate à virulência bacteriana (FABRIN; VIZZOTTO, 2019).

Assim como outros organismos, as bactérias procuram mecanismos de eliminar fatores que tentem destruí-las, visando sua sobrevivência e preservação de sua espécie. Atualmente o cenário apresentado demonstra mecanismos de proteção em constante evolução, compreendendo desde a tentativa de impedir a entrada do medicamento na célula bacteriana, produção de enzimas que destroem ou modificam o fármaco e até realizar alterações no próprio DNA bacteriano, modificando o alvo farmacológico das drogas (HOLMES *et al.*, 2016).

Bioquimicamente a resistência caracteriza-se pela não eficiência por parte do antibiótico em atingir seu alvo terapêutico, em uma dosagem usualmente eficiente para inibir ou erradicar o crescimento bacteriano. Os mecanismos de resistência podem ser descritos por serem inerentes a própria bactéria ou adquiridos. A resistência adquirida capacita as bactérias desenvolverem resistência através de mutações adquiridas do meio ou através da aquisição de material genético de outras bactérias já resistentes (OLIPHANT; EROSCHENKO, 2015).

Basicamente as bactérias apresentam três mecanismos de resistência aos fármacos antimicrobianos, (1) capacidade de modificar o local do alvo farmacológico do medicamento, diminuindo a capacidade de ligação do fármaco ao seu sítio de ativação, (2) desintegração estrutural do antibiótico através de enzimas catalíticas

produzidas pelas próprias bactérias e, (3) efluxo de antibiótico para o exterior da célula bacteriana (HEMAISWARYA; KRUTHIVENTI; DOBLE, 2008; SHELDON, 2005).

Os agentes farmacológicos utilizados no combate às infecções podem ser classificados através de seu mecanismo de ação. Existem quatro classificações básicas: (1) interferência na síntese celular de componentes essenciais para a bactéria, (2) inibição da síntese de proteínas, (3) interferência na síntese de ácidos nucleicos e (4) inibição do metabolismo (TENOVER, 2006).

Os fármacos que atuam inibindo a síntese da parede celular contemplam a classe dos betalactâmicos, carbapenêmicos e monobactâmicos, outros são os glicopeptídeos como a vancomicina e teicoplanina, todos atuam no bloqueio da síntese da parede celular. A diferença é que os betalactâmicos inibem a síntese de uma nova célula quando interferem nas enzimas responsáveis pela produção da camada de peptidoglicano, enquanto a vancomicina e a teicoplanina se ligam aos resíduos D-alanina terminais da cadeia peptidoglicana nascente, impedindo a reticulação da parede celular bacteriana, imprescindível para sua estruturação (MCMANUS, 1997; NEU, 1992).

Outros agem inibindo a síntese proteica ligando-se aos ribossomos, que diferem em estrutura dos encontrados em células eucariontes humanas, permitindo seletividade para as células bacterianas, impedindo a produção de proteínas indispensáveis para o metabolismo destes microrganismos. Macrolídeos, aminoglicosídeos e tetraciclina se ligam à subunidade 30S do ribossomo bacteriano, enquanto o cloranfenicol se liga à subunidade 50S (NEU, 1992; MCMANUS, 1997).

Interrompendo a síntese de DNA bacteriano temos a classe das fluoroquinolonas e as sulfonamidas junto com o trimetoprim, que bloqueia o caminho para a síntese de ácido fólico inibindo a síntese de DNA (DRLICA; ZHAO, 1997; STORM; ROSENTHAL; SWANSON, 1977).

3.1.1 Alterações no DNA bacteriano

As bactérias podem desenvolver resistência utilizando mecanismos que alterem seu DNA, repassando esta informação para outros microrganismos. Análises em nível molecular demonstram que a multirresistência generalizada se perpetua através da passagem de informações genéticas de um microrganismo para outro, atividade ampliada devido à seleção dos representantes resistentes. Para que o

material genético seja coletado, inserido e repassado, ocorrem eventos intracelulares com a participação de elementos dotados de mobilidade, definidos como elementos genéticos móveis (EGM). Intracelularmente, as sequências de inserção e transposons são exemplos dessas estruturas, contendo informações que se distribuem aleatoriamente para novos locais na mesma, ou em diferentes moléculas de DNA, dentro de uma única célula (PARTRIDGE *et al.*, 2018). Outro exemplo são os integrons, onde a reestruturação ocorre de forma que a mobilidade ocorre entre locais específicos (KORSAK *et al.*, 2019).

Na etapa onde há a captura de informações genéticas entre microrganismos temos três mecanismos conhecidos: conjugação / mobilização (mediada por plasmídeos e elementos conjugativos integrativos ECI), transdução (mediada por bacteriófagos) e transformação (captação de DNA extracelular) (PARTRIDGE *et al.*, 2018).

Outros exemplos de elementos genéticos móveis são os genes cassetes, constituídos de um único gene que podem assumir uma forma circular, mas não se replicam, já os plasmídeos são um meio de transporte genético que variam em tamanho, se localizam extracromossomo e são replicáveis, podendo transmitir a informação para células descendentes através de divisão celular ou para outras células bacterianas (KORSAK *et al.*, 2019; PARTRIDGE *et al.*, 2018).

Outra forma de alteração genética são as chamadas ilhas genômicas, estes elementos são passados entre células sem o processo de divisão celular e contêm várias informações de fatores de resistência ou virulência bacteriana. São denominadas ilhas por abrigarem vários elementos genéticos móveis como os elementos conjugativos integrativos, elementos integráveis mobilizáveis e genes cassetes, havendo muitas vezes a necessidade de processos como a conjugação ou elementos virais, como os fagos, para transferirem a informação genética (PARTRIDGE *et al.*, 2018; PIÑA-ITURBE *et al.*, 2020).

Modificações em locais de ligação de medicamentos ocorrem com as proteínas de ligação à penicilina (PLPs), elas podem sofrer mutação no gene que as codifica. Essas enzimas se encontram tipicamente ancoradas na membrana citoplasmática da parede celular bacteriana e funcionam na montagem e controle dos últimos estágios da construção da parede (PUCCI; DOUGHERTY, 2002). *S. aureus* MRSA, expressa um gene que codifica uma PLP alterada (PLP2a), em comparação com os PLPs mais comumente encontradas esta alteração leva ao caráter de resistência e dificuldade de

tratamento em infecções causadas por esta cepa (PUCCI; DOUGHERTY, 2002). O genoma que codifica PLP2a tem baixa afinidade para todos os antimicrobianos β -lactâmicos permitindo assim a sobrevivência mesmo em presença de altas concentrações do medicamento (TANG; APISARNTHANARAK; HSU, 2014).

3.1.2 Inativação enzimática

O metabolismo bacteriano está sempre em busca de mecanismos que promovam sua sobrevivência. Um destes mecanismos é a produção de enzimas que desestruturam ou modifiquem a molécula de antimicrobiano, tornando-a inefetiva. Reações químicas que envolvam hidrólise, transferência de grupos químicos ou mecanismos de redução desorganizam a estrutura química do fármaco, imprescindível para atingir o alvo farmacológico localizado na bactéria (WRIGHT, 2005).

Exemplos clássicos de mecanismo de resistência, onde a estrutura química do fármaco é desorganizada, são um grupo de amidases que clivam o anel β -lactâmico de classes de drogas como as penicilinas e cefalosporinas. Esterases foram associadas à resistência de antimicrobianos da classe dos macrolídeos e epoxidases clivam a estrutura anelar da fosfomicina (ABRAHAM; CHAIN, 1940).

O primeiro mecanismo desta natureza relatado por pesquisadores foi a produção de enzimas penicilinases por *Escherichia coli* patogênica (ABRAHAM; CHAIN, 1940). O estudo dessas enzimas tem sido extremamente explorado, fornecendo cada vez mais detalhes sobre o funcionamento da dinâmica de resistência (HARTMAN.; TOMASZ, 1984; JENSEN *et al.*, 2015; YIN *et al.*, 2018).

As enzimas foram classificadas de diferentes formas por diferentes autores, as lactamases inicialmente se dividem em Ser- β -lactamases e metalo- β -lactamase, se subdividindo, em relação às suas estruturas, através da sequência de aminoácidos, preferências de substratos e sensibilidade aos inibidores das enzimas (SHAH *et al.*, 2004).

O estudo publicado por Bush, Jacoby, Medeiros (1995), classificou as β -lactamases em quatro categorias, grupos 1, 2 e 4 foram classificadas como Ser- β -lactamases, enquanto o grupo 3 foi classificado como metalo- β -lactamase. O grupo 1 é composto por cefalosporinases que são pouco inibidas pelo ácido clavulânico; o grupo 2 é composto por penicilinases sensíveis aos ácidos clavulânicos e inclui as

chamadas β -lactamases de espectro estendido (ESBLs) (SHAH *et al.*, 2004). O grupo 4 é formado por lactamases pouco inativadas pelo ácido clavulânico e que não se enquadram nas outras categorias. O ácido clavulânico foi descoberto pelo *Beecham Research Laboratories* a partir de cepas de *Streptomyces clavuligerus*, possuindo uma origem natural, o laboratório estruturou um programa de triagem de microrganismos, com a finalidade de isolar inibidores das enzimas β -lactamases que inativavam os antimicrobianos que gerou a descoberta (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Os antimicrobianos da classe dos macrolídeos interferem na síntese proteica das bactérias, sua estrutura molecular cíclica possui uma ligação éster primordial para exercer seu efeito farmacológico, as esterases agem clivando justamente estas ligações (WONDRACK *et al.*, 1996; BISKRI; MAZEL, 2003; WRIGHT, 2005).

Outro exemplo seria a fosfomicina, um fármaco bactericida, composto por um anel epóxi, que rompe a síntese da parede celular por modificar covalentemente a enzima citosólica *MurA*, essencial para a síntese do ácido N-acetilmurâmico, um dos blocos essenciais na formação do peptidoglicano, sustentáculo da parede celular. A resistência enzimática a esse antibiótico se dá através da abertura e destruição do anel epóxido pelas enzimas epoxidases (FILLGROVE *et al.*, 2003).

Um grupo de enzimas de resistência bastante heterogêneo são as transferases, elas modificam de forma covalente os antimicrobianos, promovendo alterações estruturais que não permitem a ligação do fármaco ao alvo de forma adequada (WRIGHT, 2005). As estratégias químicas de modificação covalente incluem, O-acilação e N-acilação, O-fosforilação, O-nucleotidilação, O-ribosilação, O-glicosilação e transferência de grupo tiol e dependem da presença de um co-substrato (ATP, acetil-CoA, NAD⁺, glicose UDP ou glutatona). O evento ocorre mais comumente em grupos hidroxila e / ou amina vulneráveis presentes em antimicrobianos, levando à inativação (WRIGHT, 2005).

Exemplos práticos são as acetiltransferases de aminoglicosídeos, como estes compostos se ligam ao ribossomo, alteram o mecanismo de decodificação, resultando na síntese de proteínas alteradas, bloqueando a etapa de tradução. As interrupções dos principais grupos hidroxila e amina, bloqueia a interação do fármaco com o RNAr bacteriano (WANG *et al.*, 2019). As mesmas enzimas agem sobre o cloranfenicol, adotando uma organização trimérica quaternária e com três locais ativos em sua interface, podendo diferir em outros aspectos, mas compartilham estratégias moleculares semelhantes de O-acetilação (SCHWARZ *et al.*, 2004). As

estreptogaminas acetiltransferases inativam as estreptogaminas do tipo A por acetilação do grupo hidroxila livre (MURRAY; LEWENDON; SHAW, 1991).

Cinases são outro tipo de enzimas de inativação, catalisam a transferência de fosfato, normalmente uma molécula de ATP, para diversos substratos. As cinases envolvidas na resistência aos antimicrobianos são O-fosfotransferases (Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance (PARTRIDGE *et al.*, 2018).

3.1.3 Efluxo de fármaco para fora da célula bacteriana

Bombas de efluxo são proteínas presentes na membrana citoplasmática bacteriana, que têm como função enviar para fora da célula a molécula de antimicrobiano, desta forma, as quantidades de fármaco intracelular se reduzem a níveis subinibitórios, impedindo-os de atingirem seu alvo terapêutico. Estudos demonstram que fenótipos de resistência podem ser gerados pela contribuição de uma superexpressão dessas estruturas, resultantes de mutações genéticas (LOUW *et al.*, 2009).

Algumas destas bombas possuem o ATP como fonte de energia direta para realizar a exportação da molécula, outras utilizam transportadores ativos secundários alimentados por energia eletroquímica capturada em gradientes de íons transmembranares. Para que haja resistência a taxa de extração deve ser semelhante ou maior que as taxas da molécula que entra na célula (BLANCO *et al.*, 2016; DU *et al.*, 2018)

As bactérias gram-negativas são dotadas de outra estrutura exportadora, suas membranas externas contêm proteínas chamadas porinas que formam canais que permitem a passagem de muitas substâncias hidrofílicas para o interior celular, incluindo os fármacos antimicrobianos. Um nível reduzido na quantidade destas proteínas diminui o influxo de fármaco na célula microbiana, permitindo que a bactéria desenvolva resistência (THOMSON; BONOMO, 2005; SANTAJIT; INDRAWATTANA, 2016).

3.2 Biofilme bacteriano

A capacidade de formação de biofilme foi identificada desde tempos remotos, descobertas indicam que esta característica há tempos é conhecida nos procariontes.

Microcolônias de biofilme foram registradas em fósseis encontrados na África do Sul e na Austrália, biofilmes filamentosos foram descobertos em rochas vulcânicas hidrotérmicas, demonstrando a presença dessas estruturas desde a pré-história (RASMUSSEN, 2000; WESTALL *et al.*, 2001). Devido as condições ambientais extremamente adversas que ocorriam no planeta, teoriza-se que os biofilmes tenham proporcionado a possibilidade de desenvolver interações entre células individuais (HALL-STOODLEY; COSTERTON; STOODLEY, 2004).

O biofilme bacteriano formado em superfícies, confere resistência aos microrganismos e sua constituição é composta por dois tipos celulares: células sésseis, unidas em adesão às superfícies, e células planctônicas, localizadas livres no meio em dispersão, sendo as responsáveis por iniciar a formação de novos focos de biofilmes (MAUNDERS; WELCH, 2017).

O biofilme propriamente dito caracteriza-se como a união de células bacterianas unidas em uma estrutura multicelular e funcional, envolvidas externamente por uma matriz polimérica com poder de adesão, os chamados exopolissacarídeos (EPS), esta cobertura é produzida pelas próprias bactérias e aderida às superfícies vivas ou inertes (MAUNDERS; WELCH, 2017). A estrutura formada por exopolissacarídeos, DNA, proteína e fosfolipídeos confere uma verdadeira blindagem, atribuindo firmeza e capacidade de fixação, além de permitir a interação entre as células componentes do biofilme. Essa estrutura confere um alto grau de organização, cujas células expressam genes diferenciados das células planctônicas equivalentes, trazendo ao campo científico a visão de que biofilmes são comunidades diferenciadas complexas dotadas de especialização celular (HALL-STOODLEY; COSTERTON; STOODLEY, 2004; LIAO; SCHURR; SAUER, 2013).

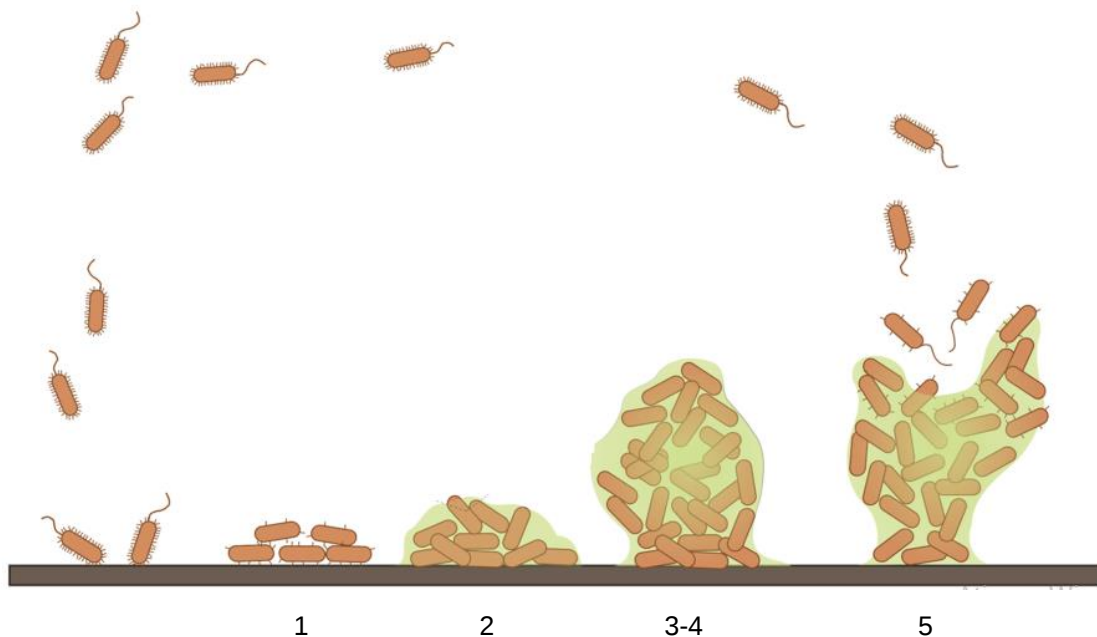
Vale salientar que a caracterização de uma estrutura de biofilme se dá através da matriz de exopolissacarídeos (EPS), que protege e confere delimitação de suas células componentes. A constituição de polímeros biogênicos altamente diversificados, promove ampla variedade na tipologia de biofilmes formados (KRONING, 2019).

O objetivo primordial da estrutura organizacional adotada é de adaptação, adquirindo a propriedade crucial de preservação da colônia frente a fatores que ameacem sua sobrevivência como radiação, mecanismos de defesa do hospedeiro e resistência aos medicamentos antimicrobianos garantindo a sobrevivência e

vantagem seletiva às células participantes desta associação (KLAUSEN *et al.*, 2003; SAUER *et al.*, 2002).

Com o desenvolvimento das sofisticadas técnicas de imagem houve a possibilidade de observar as etapas de formação de biofilmes (LAWRENCE *et al.*, 1991; STOODLEY *et al.*, 2002). Estudos realizados com o intuito de descrever as etapas de crescimento demonstraram que inicialmente as células bacterianas livres se fixam em uma superfície, tornando-se sésseis, onde crescem em forma de microcolônias, estas representam os biomarcadores em estágio inicial, sendo evidência significativa de que uma estrutura de biofilme está em formação, logo após, vem o estado de maturação e dispersão de células planctônicas no meio (Figura 1) (STOODLEY *et al.*, 2002; MÜSKEN *et al.*, 2010).

Figura 1 – Formação de biofilme bacteriano.



Fonte: MAUNDERS; WELCH, 2017.

Etapa 1: fixação inicial das células à superfície. Etapa 2: produção de EPS resultando em um anexo "irreversível" mais firmemente aderido. Etapa 3: desenvolvimento inicial da arquitetura de biofilme. Etapa 4: maturação da arquitetura do biofilme. Etapa 5: dispersão de células únicas do biofilme.

As células aderentes isoladas iniciam a formação do biofilme em superfície e inicialmente são envolvidas por matriz exopolimérica em pequena quantidade, como esta matriz confere a estruturação habitual do biofilme as células ainda possuem a capacidade de se movimentar de forma individual, migrando muitas vezes para superfície retornando ao estado planctônico livre, demonstrando assim ser um estágio

de adesão reversível. A medida que o biofilme amadurece mais matriz de exopolissacarídeos é formada promovendo a adesão na forma de estrutura mais rígida (MARSHALL; STOUT; MITCHELL, 1971; PERCIVAL, 2017).

Ao passar de uma fixação em superfície reversível para irreversível, o biofilme se torna maduro, onde as bactérias devem sempre manter contato com o substrato. (STOODLEY *et al.*, 2002). A fase de maturação denota diferenças evidentes entre células planctônicas e a uma comprovação destas seria a presença de determinadas proteínas detectáveis em amostras maduras de biofilme, indetectáveis na forma planctônica. As proteínas classificam-se basicamente em razão de suas funções: metabolismo, fosfolipídios e biossíntese de lipopolissacarídeos (LPS), transporte e secreção de membranas e mecanismos de adaptação (SAUER *et al.*, 2002). Outra observação entre o biofilme maduro e as células livres seria o material genético, Whiteley *et al.* (2001), detectou uma constância de genes em biofilmes maduros, indicando uma espécie de identidade para esta associação multicelular ativa, dentre os genes identificados predominavam os que codificam proteínas envolvidas na tradução, metabolismo, transporte e / ou secreção de membrana e regulação do próprio material genético.

Depois do início do crescimento do biofilme, as microcolônias formam uma espécie de cobertura externa de bactérias estacionárias, enquanto a região interna do microcolônia é fluida composta por células móveis (do fenótipo planctônico) e quando chega a etapa de dispersão, estas migram para fora da microcolônia, deixando um espaço vazio (SAUER *et al.*, 2002; TOLKER-NIELSEN *et al.*, 2000). O destacamento de células da estrutura, individualmente ou em grupos, tem sido associado à redução de EPS correlacionada com a falta de nutrientes devido ao crescimento demasiado da associação (ALLISON *et al.*, 1998; O'TOOLE; KAPLAN; KOLTER, 2000; SAUER *et al.*, 2002; ZHANG *et al.*, 2018).

Três mecanismos principais são atribuídos à disseminação da formação do biofilme. Pode ocorrer uma redistribuição de células bacterianas, devido a mobilidade das células que já estão aderidas na superfície de uma estrutura de biofilme já preexistente, outra maneira seria a divisão binária das células já fixas nas superfícies e um terceiro mecanismo seria o recrutamento de células do meio para o biofilme em formação (DALTON; GOODMAN; MARSHALL, 1996; DE VOR; ROOIJAKKERS; VAN STRIJP, 2020; HEYDORN *et al.*, 2000; STOODLEY *et al.*, 2002; TOLKER-NIELSEN *et al.*, 2000).

A maneira como ocorre a adesão das bactérias, agilidade, capacidade e estrutura tridimensional é influenciada por diversos fatores como ambiência do local de adesão, composição química do EPS formado, espécie bacteriana, material genético, potencialidade de virulência do patógeno e características físico-químicas da superfície onde está sendo iniciada a formação do biofilme (HALL-STOODLEY; STOODLEY, 2002; SHARMA *et al.*, 2016; STOODLEY *et al.*, 1998).

A estrutura formada demonstra ser versátil, alterando seu formato de acordo com as condições de suprimento nutricionais recebidos, apresentando-se planas ou em formato de cogumelo (HALL-STOODLEY; COSTERTON; STOODLEY, 2004; KLAUSEN *et al.*, 2003).

Canais de água foram identificados em biofilmes produzidos *in vitro* e a função atribuída a eles foi semelhante ao sistema circulatório, auxiliando no transporte de nutrientes para diferentes partes do biofilme e recolhendo resíduos de metabolismo para fora da estrutura, demonstrando cada vez mais o avanço desta associação multicelular especializada (STEWART, 2003).

Algumas propriedades mecânicas apresentadas fornecem explicação para resistência associada à flexibilização, que permite a fixação celular às superfícies sólidas, sem perder a motilidade sobre as mesmas. O comportamento viscoelástico é clássico, permitindo os biofilmes suportarem tensões geradas por forças aplicadas pelo meio onde se encontra fixado, funcionando como uma ferramenta de adaptação para sobrevivência. Estas tensões de cisalhamento são impostas, no entanto, são absorvidas comportando-se de maneira elástica sem se destacar, quando a tensão é aplicada em escalas de tempo longas observa-se o comportamento de um fluido viscoso, onde há uma deformação não reversível do biofilme resistindo ao movimento (KLAPPER *et al.*, 2002; KÖRSTGENS *et al.*, 2001; VINOGRADOV *et al.*, 2004).

O fluxo de líquidos promove e direciona a formação de biofilme, de acordo com o observado em tubulações de água, indústria de alimentos, materiais plásticos em contato com fluidos corporais dentre outras situações (DE JESUS ALMEIDA *et al.*, 2019; DE OLIVEIRA *et al.*, 2018; WEBBER *et al.*, 2019). Sob fluxos unidirecionais altos, há aumento do cisalhamento e os aglomerados de células tornam-se alongados no sentido do próprio fluxo formando serpentinas filamentosas (WEBB *et al.*, 2003). Outro efeito seria que uma tensão de cisalhamento mais alta resultando em um biofilme mais afinado e mais denso (LIU; TAY, 2001).

A fixação de bactérias ocorre em superfícies inanimadas como pias, máquinas metálicas, materiais médicos de origem plástica dentre outros apresentando um fator crítico em indústria de alimentos e congêneres, crescendo também em superfícies orgânicas como dentes, pele, traqueia e trato urinário. A proteção conferida pelo biofilme em sistemas orgânicos faz frente tanto ao sistema de defesa do hospedeiro quanto aos medicamentos antimicrobianos utilizados em esquemas terapêuticos (BJARNSHOLT, 2013; LIN *et al.*, 2018).

Em organismos vivos o problema torna-se de saúde pública com altos riscos de perda tecidual, infecções e resistência a medicamentos. A característica diferencial entre infecções comuns, colonizadoras, e infecções causadas pelos biofilmes é a presença de microcolônias agregadas de células que estão ligadas a uma superfície tecidual responsável por uma virulência mais agressiva. Um entrave na unificação de pesquisas de biofilmes em doenças humanas é a falta de critérios universalizados para determinação de patologias, devido as vastas publicações médicas em diferentes tecidos vivos (HALL-STOODLEY *et al.*, 2002; LEBEAUX *et al.*, 2013).

Com relação à formação dos biofilmes em corpos estranhos, os dispositivos médicos utilizados para diagnósticos, tratamentos ou procedimentos clínicos, possuem alto índice de infecção e elevada resistência aos antissépticos e antimicrobianos retendo a atenção de cientistas devido ao aspecto crônico e inflamatório do quadro clínico apresentado (E SILVA, 2017; HALL-STOODLEY *et al.*, 2002; HØIBY, 2014; LEBEAUX *et al.*, 2013; PETERS; LOCCI; PULVERER, 1982).

Exemplos destes eventos infecciosos são infecções associadas à dispositivos como materiais ortopédicos, cateteres intravenosos, tubos endotraqueais, cateteres urinários, stents e implantes mamários (DE CUETO-LÓPEZ *et al.*, 2016; E SILVA, 2017; RIBEIRO, 2016; ZUMSTEIN *et al.*, 2017). Outros exemplos são as endocardites, otites, sinusites e pneumonias (DESROSIERS; VALERA, 2019; HU *et al.*, 2016; IUNG, 2019; MONZANI; BERTOLI; VIAPIANA, 2018).

O quadro infeccioso apresentado está diretamente ligado ao sistema imunológico, incluindo resposta mediada pelo sistema imunológico adaptativo e inato, no entanto, os patógenos constituintes do biofilme resistem a estas respostas através da regulação positiva da síntese de vários determinantes de virulência, causando infecções persistentes (ALHEDE *et al.*, 2009; BJARNSHOLT *et al.*, 2013).

Muito reconhecida e explorada cientificamente está a formação de biofilme bacteriano em materiais utilizados no procedimento de sutura cirúrgica, estudos *in*

vitro demonstram esse fenômeno, mas relatos da presença dessa estrutura em procedimentos clínicos estão surgindo cada vez mais (CARNEIRO *et al.*, 2019; ENGELSMAN *et al.*, 2007; ETEMADI *et al.*, 2019; WELLS *et al.*, 2011). A colonização de materiais de sutura, como os fios utilizados para o fechamento de feridas, evoluem frequentemente para as ISC, uma vez que a superprodução de células do sistema imunológico de forma crônica não permite a cicatrização adequada do tecido (BUSSCHER *et al.*, 2012; HENRY-STANLEY, *et al.*, 2010). A própria fisiopatologia do indivíduo, população múltipla de microrganismos, ambiente da ferida com superfície propícia e exsudatos, compõem ambiente passível de formação de biofilme, atribuindo riscos de desenvolvimento de uma infecção na área afetada (PERCIVAL, 2017).

Kathju *et al.* (2009) relatou que um paciente submetido à cirurgia de bypass gástrico sofreu de ISC intra-abdominal que persistiu por 14 meses, apesar de vários ciclos de tratamentos com antimicrobianos e cuidados locais. O grupo relatou também que quando realizavam o exame de cultura para o material drenado o resultado era negativo, e em seguida realizaram uma investigação mais aprofundada afim de identificar a origem da infecção, com a remoção das suturas implantadas realizaram exame de microscopia confocal de varredura a laser e hibridização fluorescente e o resultado encontrado foi a presença de biofilme bacteriano de origem diversificada em espécies bacterianas que eles atribuíram a possível causa da infecção crônica.

A superfície do fio de sutura consiste em um alvo propício para adesão bacteriana. A proximidade com os tecidos pode desencadear danos comprometendo o propósito de cura e fechamento da ferida (CARNEIRO *et al.*, 2019). Quando há formação de biofilme, a descontaminação do local se torna insuficiente devido à resistência dos microrganismos (STEWART, 2015).

3.3 Infecções de sítio cirúrgico (ISCs)

O próprio procedimento cirúrgico apresenta risco ao paciente, por ser um procedimento altamente invasivo e pelo risco de contaminação microbiana. O rompimento das barreiras mecânicas, representadas pelo tecido epitelial e pelos próprios órgãos, gera uma infinidade de reações sistêmicas e bioquímicas nos organismos. No entanto, após um procedimento bem-sucedido não se exime o risco de infecção, havendo a possibilidade da ISC ocorrer até 30 dias após cirurgia, ou até um ano, caso haja implante de prótese. A localização corporal, onde a cirurgia foi

realizada, dentre inúmeros fatores, influencia diretamente na incidência e tipologia da infecção (NAJJAR; SMINK, 2015).

A infecção que ocorre no local onde foi realizado o procedimento ou onde houve o fechamento da ferida denomina-se infecção de sítio cirúrgico (ISC), representando um dos riscos mais incidentes em pós-operatórios, um problema clínico de caráter mundial, através da contaminação, prevalentemente bacteriana, destas feridas. Neste tipo de infecção, os gêneros bacterianos mais comumente encontrados são; *Staphylococos*, *Streptococos*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* e bactérias da família Enterobacteriaceae (GRIGORAS *et al.*, 2016).

As incisões cirúrgicas realizadas podem ser superficiais ou endógenas profundas e dentre os gêneros mais prevalentes observa-se a importância da presença de algumas espécies corriqueiramente isoladas destes ferimentos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (CHENG *et al.*, 2015).

Clinicamente a infecção é diagnosticada através dos sinais de inflamação (inchaço, dor e eritema) na área afetada, além da presença de bactérias em desenvolvimento produzindo secreção purulenta, desenvolvendo assim, uma ferida infectada, de onde a coleta de fluidos pode ser levada para exames de cultura bacteriana, úteis para identificação do microrganismo patogênico e sensibilidade aos medicamentos antimicrobianos que serão utilizados para o tratamento (XU *et al.*, 2015). As infecções do sítio cirúrgico podem ser classificadas em três categorias principais: incisional superficial; incisional profundo; e órgão / espaço, ou intracavitário (TURINA; CHEADLE, 2006).

Como consequências das ISCs o indivíduo pode necessitar de novos procedimentos cirúrgicos, prolongando o tempo de permanência dentro da unidade hospitalar, além de novas internações, elevando os riscos de comorbidades e até mortalidade. Todos estes fatores aumentam custos com a saúde dos pacientes, custos estes, que poderiam ser investidos em novas tecnologias em benefício da saúde da população (ATKINSON, *et al.*, 2017; ISKANDAR, *et al.*, 2019; LEAPER; OUSEY, 2015).

Prevenção e organização são fatores cruciais para evitar as ISCs, a cicatrização adequada da ferida é de suma importância. A fonte deste tipo de infecção pode estar relacionada ao próprio paciente, microbiota natural do local da infecção, ou possuir uma origem externa como preparo antes do procedimento, técnica cirúrgica

empregada, má esterilização de materiais utilizados no procedimento, ambiência do local onde foi realizada a cirurgia ou até imperícia de algum membro da equipe envolvida.

Diversos estudos evidenciam a importância deste tipo de infecção, sobretudo relacionando o tipo de cirurgia realizada e duração deste evento, uma vez que tempos cirúrgicos prolongados permitem mais oportunidades de contaminação, além do cansaço de toda a equipe que pode levar ao erro (MARTIN *et al.*, 2016).

Autores reportam a incidência de ISCs em diferentes tipos de cirurgia, a exemplo de cirurgias realizadas na coluna vertebral, hérnia, esôfago, estômago, apêndice, cólon, obstétricas, maxilofacial e retal, além do que, o controle deste tipo de infecção faz parte do próprio programa de restrição às infecções hospitalares e melhoria da qualidade na assistência, sendo de extrema importância os dados coletados sobre esta temática (ATKINSON *et al.*, 2017; CHENG *et al.*, 2015)

O próprio ambiente cirúrgico é propício à disseminação de infecções, durante a cirurgia as bactérias presentes no meio podem contaminar o tecido local, havendo ainda o risco de adesão bacteriana aos dispositivos médicos, o que representa um alto risco de contaminação (DHARAN; PITTET, 2002). A microbiota prevalente e até a circulação de ar influenciam neste processo, além dos instrumentos utilizados e técnicas de esterilização (DHARAN; PITTET, 2002; TUMMALAPALLI, *et al.*, 2016). Apesar do amplo desenvolvimento de técnicas esterilizantes e de centros cirúrgicos repletos de modernidades, esta etapa é decisiva para a ocorrência de infecções de sítio cirúrgico (BOLTZ *et al.*, 2011; SESSLER, 2006).

Em relação ao paciente, as comorbidades prévias ao procedimento influenciam diretamente na evolução da cicatrização da ferida, doenças pré-existentes como a diabetes e o câncer, conferem uma maior propensão de desenvolvimento de ISC (MARTIN *et al.*, 2016; MAWALLA, *et al.*, 2011; OWENS; STOESSEL, 2008; TALBOT, 2005).

O quadro de ISC se torna ainda mais crítico quando há implantes ortopédicos envolvidos no procedimento, pois assim, como os fios de sutura, as próteses são corpos estranhos propensos ao crescimento bacteriano, ainda mais, por muitas vezes estes materiais estarem internos ao corpo do paciente (HAUSER; ADAMS JR; EACHEMPATI, 2006; XU *et al.*, 2015).

Como já explanado, a pele é colonizada por bactérias e esta flora pode contaminar a sutura no momento do procedimento de fechar a ferida, os

microrganismos possuem o potencial de se mover da superfície da pele para as camadas mais profundas do tecido, transportados com o auxílio do material de sutura que perpassa a pele em vários pontos (HENRY-STANLEY *et al.*, 2010). O acúmulo bacteriano no local de fechamento da cirurgia altera a ambiência criando um ambiente hipóxico e ácido dentro e ao redor da ferida, além de inibir a atividade dos fibroblastos, que resultam em retardo na cicatrização (ABREGO *et al.*, 2018; BUCKNALL, 1980).

Há escassez na documentação relacionada à incidência de infecções de sítio cirúrgico correlacionadas aos fios de sutura contaminados por biofilme bacteriano, a grande problemática seria a resistência em relação aos medicamentos antimicrobianos, atribuída pela proteção fornecida através da encapsulação da estrutura do biofilme, além das reações inflamatórias persistentes que podem causar perda da função dos tecidos (MAHESH *et al.*, 2019).

As bactérias que compõem a estrutura dos biofilmes possuem maior resistência a antimicrobianos, no entanto, há evidências de que células de biofilme planctônicas e dispersas têm suscetibilidade antimicrobiana intrínseca semelhante (SPOERING; LEWIS, 2001). A resistência é adquirida através de mutações, passadas para outros membros, superexpressão de bombas de efluxo, enzimas de degradação da molécula de fármaco, dentre outros mecanismos tradicionais de resistência bacteriana (HØIBY *et al.*, 2010).

Na tentativa de reduzir infecções, o uso de profilaxia antimicrobiana em cirurgias é bastante rotineiro, porém, alguns autores afirmam que não há evidências científicas de que o uso profilático de antimicrobianos em pacientes que tecnicamente não são propensos a desenvolverem este quadro, seja eficiente (SAVELI *et al.*, 2013; XU *et al.*, 2015). É necessária prudência neste tipo de intervenção, pois o uso de exemplares antimicrobianos de amplo espectro indiscriminadamente e por tempos prolongados, podem contribuir para o surgimento da já conhecida resistência bacteriana (BRATZLER *et al.*, 2013).

3.4 Bactérias e ISCs

Os espécimes bacterianos gram-positivos aeróbicos predominam em ISC, dentre os mais prevalentes em análises de feridas estão *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium chelonae*, *Clostridium perfringens*, *Mycobacterium fortuitum*, *Staphylococcus aureus*, dentre outros, mas também há a presença de espécies gram-

negativas como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* (PERCIVAL, 2017; TAKESUE *et al.*, 2012). Observa-se um caráter extremamente diversificado de espécies com genótipos e fenótipos diversos coexistindo, sendo constantemente isoladas em diferentes tipos de feridas, tornando a pesquisa em assuntos desta estirpe de extrema importância (TAKESUE *et al.*, 2012). Na maioria das ISC os patógenos são originários da flora do próprio paciente, dependendo do procedimento cirúrgico realizado, sendo os microrganismos de maior importância, devido ao seu recorrente isolamento, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (OWENS; STOESSEL, 2008).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou em 2017, uma lista com patógenos pertencentes a 12 famílias de bactérias, que deveriam ser prioridade para as instituições de saúde, em razão da resistência destes microrganismos em relação aos antimicrobianos.

Representando graves ameaças, sobretudo para as infecções relacionadas à saúde (IRAS), o referido documento veio com o objetivo de direcionar esforços da comunidade científica no desenvolvimento de novas alternativas de substâncias antimicrobianas, atendendo as crescentes necessidades da saúde pública. A lista trazia três categorias, de acordo com a urgência da necessidade de novos antimicrobianos: crítica, alta e média prioridade, sendo o grupo mais crítico aquele de bactérias multirresistentes, que diminuem as opções de tratamento representando ameaça para pacientes em internação hospitalar, principalmente aqueles nos quais são inseridos dispositivos médicos.

Dentre as famílias evidenciadas neste documento estavam *Acinetobacter*, *Pseudomonas* e várias *Enterobacteriaceae* (incluindo *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Serratia* e *Proteus*). As dificuldades encontradas para o tratamento destes patógenos, levam ao surgimento da sigla ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, espécies de *Enterobacter*) que representa as principais espécies e gêneros resistentes aos principais antimicrobianos utilizados para tratamentos clínicos, a *Escherichia coli* também se inclui nestes representantes, devido a produção de enzima beta-lactamase. Estes microrganismos são de alta importância devido aos índices de infecções em ambientes comunitários e nosocomiais de difícil tratamento pela resistência bacteriana (PLETZER; MANSOUR; HANCOCK, 2018; SANTAJIT; INDRAWATTANA, 2016).

Concentrações subletais de antimicrobianos aumentam a capacidade evolutiva e de adaptação, provavelmente há a sinalização para alterações fenotípicas e de expressão gênica que podem afetar a capacidade e potencial patogênico das células, conferindo resistência e disseminando mutações entre as gerações seguintes (HOLMES *et al.*, 2016; VAN LAAR *et al.* 2015).

3.4.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é uma espécie bacteriana que causa uma série de infecções clínicas, além de estar constantemente presente em ISCs, como endocardites infecciosas, infecções osteoarticulares, da pele e tecidos moles, pleuropulmonares e relacionadas à dispositivos de saúde (TONG *et al.*, 2015). Caracteriza-se como uma bactéria comensal patogênica nos organismos humanos, do grupo dos cocos gram-positivos, frequentemente encontrada na pele e fossas nasais de pessoas saudáveis. Uma complicação rara da infecção pela estirpe é a síndrome do choque tóxico podendo estar associado ao *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (PARLET; BROWN; HORSWILL, 2019).

Um exemplo de infecção associada à dispositivos pelo patógeno *S. aureus*, são as cirurgias cesarianas. Uma paciente após o procedimento, apresentou uma lesão de alta intensidade ao redor da cicatriz apresentando quadro de sepse causada por infecção de sítio cirúrgico. Foi realizado desbridamento e removido os fios de sutura, da marca Vicryl plus®, utilizados para suturar o procedimento, os achados patológicos das amostras revelaram formação de tecido de granulação com células multinucleares de corpo estranho e células inflamatórias ao redor dos fios, a cultura dessas amostras demonstraram crescimento de MRSA (KOMURO *et al.*, 2017).

3.4.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli apresenta-se como uma bactéria gram-negativa anaeróbia facultativa, não esporulada e grandemente conhecida por habitar o ambiente intestinal humano de forma inofensiva, no entanto, por motivação de sua localização, contamina alimentos e água de forma expandida, indicando que a pele humana dissemina amplamente o patógeno. Além de sua importância na área de alimentos, indicando contaminação, algumas cepas desenvolveram virulências específicas causando

doenças em indivíduos saudáveis, as síndromes clínicas resultantes podem incluir gastroenterites, infecções do trato urinário, septicemia e meningite (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004). *E. coli* é a espécie gram-negativa entérica mais comum em causar infecção fora do ambiente intestinal, principalmente nos ambientes ambulatoriais, de longa permanência e hospitalares (GRANSDEN *et al.*, 1990; VASTAG, 2001).

3.4.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa são microrganismos patogênicos gram-negativos de caráter de oportunidade, muito comum na comunidade, a facilidade de contato o torna muito acessível e altamente presente em infecções de diferentes origens. Sua disseminação facilitada torna a bactéria de fácil crescimento em produtos para saúde como ventiladores, stents, jelcos, cateteres, dentre outros. Todas estas características promovem a presença da espécie dentro do hospital, de maneira extremamente disseminada, uma vez que o ambiente se mostra propício, pois além de facilitar seu crescimento, permite o contágio entre os pacientes internados nestas instituições (PEREIRA *et al.*, 2014).

As capacidades de adaptar-se e de se replicar da *P. aeruginosa* têm sido atribuídas à diversos fatores, um deles seria o extenso tamanho do DNA bacteriano adicionado a sua capacidade de desenvolver-se de forma oportunista, demonstrando que a bactéria se adapta, apresentando um metabolismo versátil, muitas vezes convivendo com outros microrganismos ou com o próprio hospedeiro sem causar infecções ou danos. A patogenicidade advém de indivíduos imunocomprometidos, onde a bactéria encontra oportunidade de se desenvolver e causar infecções muitas vezes de difícil tratamento, por apresentar uma resistência quase que intrínseca a diversos antimicrobianos (MAUNDERS; WELCH, 2017; TAYLOR; YEUNG; HANCOCK, 2014).

A redução cada vez mais frequente da eficácia dos antimicrobianos caracteriza-se como um problema de saúde pública global incentivando a comunidade científica a buscar novas alternativas terapêuticas. Produtos naturais derivados de fontes como plantas, animais e microrganismos, apresentam eficácia significativa para o tratamento de doenças infecciosas com a possibilidade de agir em sinergia com outros compostos, superando a resistência aos medicamentos de uso atual, demonstrando

ser uma fonte confiável e promissora de novos fármacos com o intuito de ultrapassar os mecanismos de resistência bacterianos (HOBSON; CHAN; WRIGHT, 2021; YE *et al.*, 2020).

3.5 Agentes antimicrobianos e sua utilização

3.5.1 Ampicilina

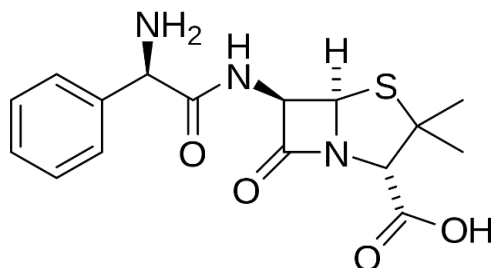
Os antimicrobianos da classe dos betalactâmicos, apesar de seu uso há muito já consolidado, ainda são os mais prescritos na clínica por sua fácil disponibilidade, segurança e eficácia comprovada, no entanto, essa ampla utilização, trouxe elevados índices de resistência à fármacos aos microrganismos (LEE *et al.*, 2014; SHAPIRO *et al.*, 2014).

O uso contínuo de antimicrobianos desta classe deu origem à extensa proliferação de enzimas β -lactamases, produzidas por bactérias, que ao hidrolisarem o anel β -lactâmico, tornam a molécula inativa, caracterizando o maior problema em relação à resistência para com esses compostos (PALZKILL, 2013).

Ampicilina (Figura 2) é um dos representantes betalactâmicos mais conhecidos no meio clínico e tem sua origem na década de 60 no Reino Unido, sendo um derivado semissintético da penicilina extremamente utilizado de modo sistêmico (DYAS; WISE, 1983; SHARMA *et al.*, 2018; TAVARES, 1985). Possui certa estabilidade no ambiente ácido estomacal sendo resistente à hidrólise ácida quando administrada oralmente, atingindo concentrações terapêuticas de forma ampla, possibilitando sua ação farmacoterapêutica ao alcançar os tecidos moles (ESLAMI; SARLAK, 2018; JUSKO; LEWIS, 1973; TAVARES, 1985).

Cerca de 20% do fármaco se liga às proteínas plasmáticas, cruza a barreira placentária e possui a capacidade de atingir a circulação fetal, com presença em quantidades reduzidas no leite materno (CHOW; JEWESSON, 1985; HIRSCH *et al.*, 1974). Sua eliminação é realizada pelo sistema renal com meia vida curta em indivíduos com função preservada, sendo essa meia vida prolongada em pacientes com função renal comprometida (JUDY *et al.*, 2021; RAVEENDRAN, *et al.*, 1990).

Figura 2 - Molécula de ampicilina.



Fonte: própria autora

Classifica-se como um antimicrobiano bactericida de amplo espectro, agindo farmacologicamente sobre microrganismos gram-positivos e gram-negativos, com mecanismo de ação semelhante a todos os betalactâmicos (SAGGERS; LAWSON, 1966). O mecanismo farmacológico consiste em inibir a síntese da parede celular bacteriana através da ligação às proteínas de ligação à penicilina (PLPs), enzimas responsáveis pela formação da parede celular. O antimicrobiano mimetiza quimicamente a enzima transpeptidase, responsável pelo estágio final da formação do peptidoglicano, principal componente da parede celular, promovendo uma desestruturação do microrganismo (RAFAILIDIS; IOANNIDOU; FALAGAS, 2007).

O mecanismo mais comum de promover resistência bacteriana pela ampicilina é a quebra do anel β-lactâmico por enzimas produzidas pelos microrganismos (NEU, 1982; NAAS *et al.*, 2017). Menos comum, seria a redução no número de canais de porina, proteínas presentes na membrana externa das bactérias que estabelecem comunicação do meio externo com o interior celular (RAFAILIDIS; IOANNIDOU; FALAGAS, 2007).

Mutações genéticas em genes que codificam as PLPs e codificadores dos canais de porinas, também podem ocorrer. O exemplo mais clássico e de importância clínica seria o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), essas cepas produzem uma lactamase codificada por plasmídeo modificando o anel β-lactâmico (CRAFT *et al.*, 2019).

O uso frequente de ampicilina em infecções se deve a suas qualidades inerentes como baixa toxicidade e boa absorção, associando seu uso disseminado à resistência bacteriana. Exemplo de desenvolvimento de resistência foi o uso disseminado de ampicilina em tratamentos de infecções pielonefrite pré-parto agudas, causadas por *Escherichia coli* em mulheres grávidas, devido à eficácia, custo e risco

mínimo para a mãe e feto (HART *et al.*, 2001). Surto infecciosos relacionados à resistência bacteriana, em hospitais, foram relacionados à utilização do uso profilático de ampicilina com intuito de prevenir infecções. Corroborando com esta ideia, *S. aureus* resistente está presente em diversos ambientes sendo fonte de várias infecções em locais específicos como os ambientes de tratamentos clínicos e em diversas regiões anatômicas humanas (NA'WAS *et al.*, 1998; OLESEN, *et al.*, 1995; BOOTH *et al.*, 2001).

Na área da clínica odontológica, a resistência também é frequente, Bernardo *et al.* (2005) analisando amostras coletadas no ambiente clínico odontológico, identificou a produção de β -lactamase e resistência bacteriana aos principais antimicrobianos utilizados na prática clínica, dentre eles a ampicilina.

Haemophilus influenzae produz betalactamases mediadas por plasmídios, o referido patógeno é constantemente isolado das vias aéreas de pacientes com DPOC, sendo alvo de atenção principalmente em pacientes hospitalizados que estão sob ventilação mecânica, apresentando constantemente resistência a ampicilina (MENDELMAN *et al.*, 1984; SATYANARAYANA *et al.*, 2017).

Negussie *et al.* (2015) realizou um estudo de incidência de ISC em um hospital localizado na Índia, onde pacientes que foram submetidos à cirurgia eletiva abdominal foram investigados. Investigou-se os patógenos prevalentes e resistência à antimicrobianos, demonstrando resistência de representantes bacterianos gram-positivos e gram-negativos ao antimicrobiano ampicilina.

Ampicilina quando associada com sulbactam melhora consideravelmente seu espectro de ação, evidências clínicas confirmam que o uso de Ampicilina / Sulbactam em infecções adquiridas em ambientes hospitalares ou de origem comunitária, sugerem eficácia do antimicrobiano aumentada tanto em adultos quanto em crianças (LEES *et al.*, 1986; LODE, 2008). O sulbactam é um inibidor potente e altamente específico das β -lactamases, caracteriza-se como um derivado sulfona obtido pela oxidação do enxofre tiazolidina do ácido penicilânico (WILLIAMS, 1997). Este inibidor de betalactamases impede que o anel betalactâmico da ampicilina seja destruído, estendendo o espectro de ação da ampicilina por incluir ação antimicrobiana extra contra cepas patogênicas produtoras de β -lactamases (RODRÍGUEZ-GUARDADO; BLANCO; CARTÓN, 2010).

A prescrição de ampicilina tem se tornado cada vez mais obsoleta, sobretudo quando utilizada de forma empírica, devido ao índice de resistência bacteriana

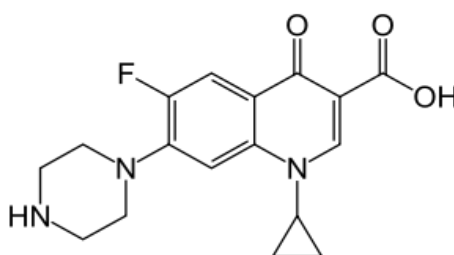
relacionado a sua utilização. No entanto, devido às características como boa absorção e baixa toxicidade, surge a necessidade de resgatar este valioso fármaco para utilização clínica.

3.5.2 Ciprofloxacino

As primeiras quinolonas surgiram no início dos anos 60, com a introdução do ácido nalidíxico na prática clínica. Nos anos 80 houve o acréscimo de um átomo de flúor no anel quinolônico, surgindo as fluoroquinolonas, que possuem como principal representante o ciprofloxacino (Figura 3) (BALL, 1986).

Ciprofloxacino é classificado como um antimicrobiano sintético desenvolvido a partir do ácido nalidíxico, possui ação bactericida com espectro antibacteriano amplo, abrangendo patógenos gram-positivos e gram-negativos e potência elevada (BALL, 1986).

Figura 3 - Molécula de ciprofloxacino



Fonte: própria autora.

Quinolonas são frequentemente prescritas para diversas patologias, as reações adversas atribuídas a estes compostos geralmente são sem grandes problemáticas, tendo como vantagem aspectos farmacocinéticos significativos em comparação ao composto originário (ALDRED; KERNS; OSHEROFF, 2014).

O mecanismo de ação dos compostos da classe consiste na atuação sobre o DNA bacteriano, onde ocorre inibição das proteínas DNA girase e topoisomerase bacteriana, necessárias para a replicação, transcrição, reparo e recombinação do DNA da bactéria. A DNA girase torna a molécula de DNA compacta e biologicamente ativa, permitindo a separação e fechamento da estrutura em fita dupla, catalisados por esta enzima. Ao inibir essa enzima, a molécula de DNA passa a ocupar grande espaço no interior da célula e suas extremidades livres determinam uma síntese

descontrolada de RNA mensageiro e de proteínas, promovendo a morte da bactéria. Em adição, inibe *in vitro* a topoisomerase IV, porém não é conhecido se este fato contribui para sua ação antibacteriana. Todo esse processo resulta em um acúmulo de precursores de DNA de fita simples, interferência na transcrição e possivelmente degradação do DNA por exonucleases induzidas (PHAM *et al.*, 2019; SMITH, 1984).

As células bacterianas já demonstram redução da sensibilidade às quinolonas e fluorquinolonas. A aquisição da resistência relacionada a esta classe é reconhecida como multifatorial e complexa, sendo mediada por alvo, a forma mais comum e clinicamente significativa. Essa resistência no alvo farmacológico é mediada por mutações específicas nas proteínas bacterianas responsáveis pela manutenção e formação do DNA bacteriano, a DNA girase e topoisomerase IV, desta forma as interações entre o antimicrobiano e a bactéria fica prejudicada e o mecanismo de ação inoperante. Outra forma de resistência é a mediada por genes codificados por plasmídeo, onde materiais genéticos extracromossômicos codificam proteínas modificadas que não permitem interações entre enzima bacteriana e quinolona, alterando a maneira como o microrganismo metaboliza o fármaco além de elevar o efluxo do mesmo para o exterior da célula. As resistências mediadas por cromossomos se traduzem através da subexpressão de porinas ou da superexpressão de bombas de efluxo celular, reduzindo drasticamente as concentrações celulares (ALDRED; KERNS; OSHEROFF, 2014; CORREIA *et al.*, 2017).

Desde seu surgimento o ciprofloxacino é amplamente utilizado tanto em humanos como em animais, a comprovação deste uso foi a detecção de vestígios do fármaco no meio ambiente como água, sedimentos, solo e estrume (GAO *et al.*, 2015; HE; BLANEY, 2015; LEI *et al.*, 2015; LIAO *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2015).

Apesar do amplo espectro, o ciprofloxacino tem seu uso rotineiramente difundido, uma indicação conhecida do fármaco é para o tratamento de infecções do trato urinário (ITUs). No caso de ITUs, *E. coli* é o principal patógeno encontrado neste tipo de infecção e já sinaliza uma crescente correlação entre o aumento nas prescrições de quinolonas e uma elevação da resistência bacteriana a antimicrobianos sintéticos, comumente prescritos de forma empírica em ITUs adquiridas de forma comunitária (ARSLAN *et al.*, 2005; ECDC, ECfDPaC, 2013; KARLOWSKY *et al.*, 2001; ZERVOS *et al.*, 2003).

Fatores que associam uma maior promoção de resistência em *E. coli* relacionada a ciprofloxacino foram relatados, como anormalidades do trato urinário, idade avançada, cateterismo urinário e tratamento com outras quinolonas (ENA *et al.*, 1995).

Outro uso clínico constante do ciprofloxacino é no tratamento da pele e infecções de tecidos moles, devido ao fármaco manter níveis adequados na corrente sanguínea e tecidos da maioria dos órgãos (DASCHNER; WESTENFELDER; DALHOFF, 1986; ESPOSITO *et al.*, 1987; RANCAN *et al.*, 2019). Pacientes contaminados por *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA) apresentam há décadas resistência ao ciprofloxacino, mesmo quando o patógeno infecta tecidos bem perfundidos como os da pele, a erradicação da infecção não possui êxito em sua totalidade, retornando após o término do tratamento (EPPS *et al.*, 2020; SMITH; ENG; TECSON-TUMANG, 1989).

Atualmente se observa infecções otológicas com características de resistência devido ao perfil de prescrição de fluoroquinolonas empregado. As fluoroquinolonas quando utilizadas de forma tópica, no ramo da otologia, são providas de vantagens como o contato direto com o tecido infectado localizado no ouvido, além da prevenção do risco de complicações osteomusculares associadas ao uso sistêmico (NOONAN *et al.*, 2018).

No trato respiratório, a atuação se destaca no combate às infecções respiratórias causadas por *Pseudomonas aeruginosa*. Formulações com base neste antimicrobiano como lipossomas inaláveis, metalcomplex e outros pós secos foram desenvolvidas para tratamento do trato respiratório, no entanto, *P. aeruginosa* desenvolve rapidamente resistência (CARTLIDGE; HILL, 2017; FINLAY; WONG, 1998; LAMY *et al.*, 2018; TRAN *et al.*, 2018).

Outro aspecto infeccioso de suma importância são as infecções ortopédicas provocadas por próteses, realidade frequente no cenário de cirurgias e pacientes que se submetem a procedimentos desta natureza. Zimmerli *et al.* (1998) mostrou que a cirurgia de revisão, realizada sem remover a prótese colocada anteriormente, combinada com tratamento de rifampicina associada à ciprofloxacina, gerou taxas de cura aumentadas quando comparadas com cirurgias da mesma espécie onde utilizou-se monoterapia apenas com ciprofloxacina, indicando uma perda de eficácia do antimicrobiano.

Existe um grande investimento no campo científico em desenvolver novas formulações envolvendo ciprofloxacino em associação com outros compostos para melhora da eficácia desse fármaco. Elbi *et al.* (2017) desenvolveu nanopartículas de quitosana carregadas com ciprofloxacino e revestidas com fucoidano que foram testadas contra *Salmonella*, obtendo-se uma atividade maior que ciprofloxacina isoladamente demonstrando elevação da eficácia. Outro exemplo de novas formulações foi o trabalho desenvolvido por Lin *et al.* (2019) que desenvolveu formulações em forma de pó inalável de fago bacteriano em combinação com ciprofloxacina e obtiveram um efeito bactericida sinérgico, a formulação inovadora foi testada para infecções respiratórias por *P. aeruginosa* resistentes à antimicrobianos isolada de pacientes com fibrose cística. Almeida (2019), buscou uma nova abordagem química com o intuito de melhorar as propriedades físico-químicas do medicamento ciprofloxacino através do preparo de cocristais, que ao serem caracterizados, demonstraram melhorias promissoras ao fármaco.

Diante deste cenário, apesar de muitas vezes haver um efeito terapêutico satisfatório com antimicrobianos fluoroquinolonas, os microrganismos já apresentam resistência a esta classe levando a índices de infecções mais graves reduzindo cada vez mais as opções da terapia química aumentando os agravos à saúde.

3.6 Produtos naturais e atividade antibacteriana

3.6.1 Propriedades antimicrobianas do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham.

A família Verbenaceae possui cerca de 2.600 espécies dentro de 100 gêneros, a América Latina concentra a maioria destes representantes, pela motivação da ampla variedade de ecossistemas presentes nesta porção do continente americano (O'LEARY *et al.*, 2012). O gênero *Lippia*, pertencente a esta família, possui aproximadamente 200 espécies utilizadas para diversas finalidades, como na indústria alimentícia onde funcionam como conservantes, além do seu já comprovado valor antimicrobiano para a clínica (MOREIRA; DE SOUZA; DEBLE, 2021). A maioria dos estudos envolvendo espécies desta família possuem as folhas como fonte de extração dos óleos essenciais, embora alguns utilizem outras partes como as flores (PÉREZ ZAMORA; TORRES; NUÑEZ, 2018).

Lippia sidoides Cham. conhecida popularmente como “Alecrim-pimenta”, caracteriza-se como uma das espécies de plantas do gênero mais conhecida, principalmente no Nordeste brasileiro. Apresenta-se como um arbusto de onde o óleo essencial extraído das folhas foi amplamente caracterizado, demonstrando alto potencial antimicrobiano incluindo atividades efetivas frente microrganismos patológicos na área da odontologia e dermatologia (COSTA *et al.*, 2001; DE ASSIS *et al.*, 2021; FERNANDES FILHO *et al.*, 1998; GIRÃO *et al.*, 2003). Outras atividades relatadas foram moluscida (CAVALCANTI *et al.*, 2010) e larvicida contra *Biomphalaria glabrata* e *Aedes aegypti* (CAVALCANTI *et al.*, 2004). Mota, Dantas e Frota (2018), testaram o óleo essencial de *Lippia sidoides* contra o bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, inibindo seu crescimento *in vitro*. Baseado nestas propriedades, era esperado o efeito antibacteriano do óleo extraído das partes aéreas da planta.

Nas ciências odontológicas a placa e, conseqüentemente a cárie dentária, apresenta-se como um problema recorrente de considerável gravidade, uma vez que as bactérias causadoras da doença podem destruir a dentição comprometendo a saúde como um todo (BOTELHO *et al.*, 2007; LOBO, *et al.*, 2014). A efetividade do óleo de *Lippia sidoides* Cham. na área da odontologia pode ser atribuída a sua atividade antimicrobiana contra as bactérias presentes na cavidade oral, principalmente *Streptococcus mutans*, com pesquisas realizadas utilizando o referido óleo em produtos para cavidade oral como creme e gel dental assim como dentifrício (LOBO *et al.*, 2014; NUNES *et al.*, 2013).

Barreto *et al.* (2021), utilizou uma solução experimental contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* para limpeza de próteses dentárias, demonstrando eficácia na redução da formação de biofilmes por *Candida albicans*, indicando o potencial de ser utilizado como alternativa na prevenção e tratamento da estomatite protética.

Fernandes, Candido e Oliveira (2012), verificaram que extratos de *Lippia sidoides* apresentaram efeitos inibitórios frente a cepas do gênero *Candida*. As espécies fúngicas testadas foram *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. albicans* e *C. krusei*. Neste mesmo experimento foram determinados o teor de timol e a capacidade de inibição de crescimento bacteriano, ainda neste trabalho, foi utilizada a técnica de *spray drying* para secagem do extrato e adicionado a matrizes de maltodextrina e goma arábica, observando-se maior teor de timol nos produtos secos e também demonstrando eficácia frente às cepas de fungos.

Adicionalmente, Parente *et al.* (2018) desenvolveu um estudo onde se evidenciou o potencial antidepressivo do óleo essencial de *Lippia sidoides* e do timol. O experimento foi realizado em camundongos que quando receberam estes compostos tiveram os efeitos depressivos reduzidos, induzidos por modelo experimental.

Os óleos essenciais são misturas contendo em sua composição diversos constituintes em diferentes concentrações, onde alguns compostos estão em maior proporção, sendo chamados de majoritários, em comparação com outros presentes em quantidades reduzidas, os chamados compostos secundários, mas que compõem a mistura final conferindo características específicas ao óleo. Essa composição varia entre espécies de plantas, condições climáticas, solo cultivado, luminosidade e período de coleta, com funções de extrema importância para as plantas, principalmente atuando na defesa contra ataques de herbívoros e patógenos como os fungos e bactérias, além de ser elemento essencial em eventos como a polinização e disseminação das sementes (COSTA *et al.*, 2015; DE ALENCAR FILHO *et al.*, 2017; DE ALMEIDA *et al.*, 2018).

A composição heterogênea e variável contendo diversos constituintes dos OEs podem se localizar em diferentes partes da planta como caules, folhas, raízes, flores ou frutos (DE ALMEIDA *et al.*, 2018).

Uma característica comum dos componentes voláteis das plantas, representados pelos OEs, é sua natureza lipofílica facilitando a penetração através das membranas de microrganismos exercendo seu efeito antibacteriano. O efeito tóxico exercido sobre patógenos foi atribuído à capacidade de alguns constituintes em particular, a exemplo dos monoterpenos timol e carvacrol além dos sesquiterpenos (PÉREZ ZAMORA; TORRES; NUÑEZ, 2018). O óleo atravessando a membrana celular bacteriana desestabiliza o transporte dos íons e solutos, o que leva a perda de íons e uma redução do potencial da membrana, levando ao colapso celular e consequentemente depleção do ATP, assim a célula morre por apoptose e necrose (DE MEDEIROS *et al.*, 2011).

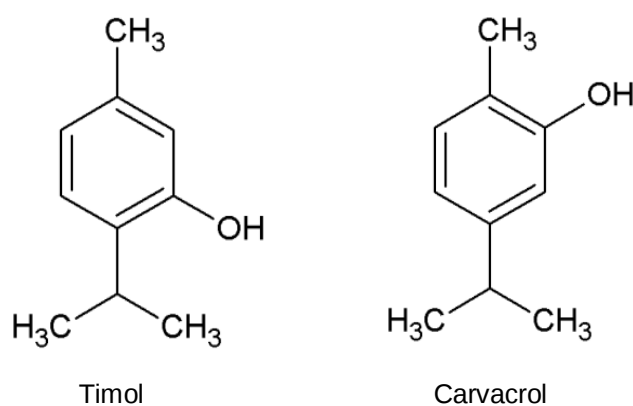
Os compostos mais comumente conhecidos, obtidos pelo metabolismo secundário, encontrados em OEs de espécies do gênero *Lippia*, são o limoneno, citral, carvacrol, β -mirceno, cânfora e timol (MOTA; DANTAS; FROTA, 2018). Os compostos fenólicos timol e carvacrol, geralmente são mais expressivos, sendo suas

porcentagens variáveis de acordo com fatores naturais incidentes sobre o cultivo da planta (FONTENELLE *et al.*, 2007; MONTEIRO *et al.*, 2007).

Devido a esta predominância o efeito antibacteriano do OELS é atribuído principalmente ao timol, no entanto, outras substancias presentes também participam do efeito terapêutico formando assim um fitocomplexo. Teoriza-se que os outros compostos presentes no óleo agem sinergicamente com o carvacrol e timol sendo responsáveis conjuntamente pelo efeito antibacteriano (BOTELHO *et al.*, 2007; QUEIROZ *et al.*, 2014; SARRAZIN *et al.*, 2015).

Timol e carvacrol são classificados quimicamente como monoterpenos fenólicos (Figura 4), a atividade biológica destes compostos está relacionada principalmente com a interação entre eles e as membranas celulares dos microrganismos em um mecanismo semelhante ao dos óleos essenciais (BEN ARFA *et al.*, 2006; HAMMER; HEEL, 2012; HELANDER; LATVA-KALA; LOUNATMAA, 1998; LA STORIA *et al.*, 2011; XU *et al.*, 2008).

Figura 4 - Estruturas químicas do timol e carvacrol.



Fonte: própria autora.

Monoterpenos também têm sua atividade antimicrobiana atribuída aos seus grupos funcionais, principalmente ao grupo hidroxila que funciona como um transportador transmembranar de cátions monovalentes, além de conferir polaridade, o que permite certa solubilidade em meio aquoso auxiliando a travessia da estrutura anfipática membranar (CRISTANI *et al.*, 2007; ULTEE; BENNINK; MOEZELAAR, 2002).

Por mérito de todos os benefícios associados à planta *Lippia sidoides* Cham. (Figura 5), o Ministério da Saúde incluiu o alecrim pimenta na Relação Nacional de

Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde, a RENISUS, publicada em 2009 pelo Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2011; BRASIL, 2009). Posteriormente foi anexada uma monografia sobre este espécime em uma publicação elaborada em 2014, intitulada como “Informações Sistematizadas da Relação Nacional de Plantas Medicinais de interesse do SUS”, publicação esta que foi atualizada em 2018 contendo ainda a monografia “*Lippia sidoides* Cham., *Verbenaceae* – alecrim pimenta” (BRASIL, 2014; BRASIL, 2018).

Portanto, *Lippia sidoides* é largamente utilizada, sobretudo na região Nordeste do Brasil, pelo programa de medicina social chamado “Farmácia Viva”, auxiliando a população com tratamentos fitoterápicos, realizados com plantas da região de eficácia terapêutica comprovada (BRASIL, 2012; MONTEIRO *et al.*, 2007). Esta planta é usada popularmente como anti-séptico de forma generalizada, devido à sua ação contra diversos microrganismos.

Figura 5 - Imagem de *Lippia sidoides* Cham. (Alecrim pimenta).



Fonte: DOS SANTOS, 2019.

3.7 Sinergismo entre antimicrobianos e produtos naturais

A resistência bacteriana aos antimicrobianos vem direcionando toda a comunidade científica em constantes tentativas de encontrar novas alternativas de compostos com esta finalidade. Nas últimas décadas houve uma tendência em buscar novas substâncias em fontes naturais, principalmente em espécies de plantas, demonstrando ser esta, uma valiosa alternativa para os tratamentos usualmente

empregados, outra estratégia para este fim é a associação entre compostos com objetivo de otimizar a eficácia de ambos (HEMAISWARYA; KRUTHIVENTI; DOBLE, 2008; MANANDHAR; LUITEL; DAHAL, 2019).

As razões para associar dois agentes antimicrobianos são diversas, mas de forma geral, há a necessidade de iniciar o tratamento de maneira mais rápida devido ao quadro clínico severo apresentado pelo paciente. Outra razão seria a tentativa de evitar mutação microbiana em infecções crônicas com o uso prolongado de determinado medicamento, desta forma, inclui-se um segundo ou terceiro fármaco para o qual ainda não há resistência. Em outras situações o paciente é acometido por diversos patógenos havendo a necessidade de tratamentos com diferentes mecanismos farmacológicos, e por fim, a associação entre substâncias antimicrobianas busca o sinergismo entre eles, elevando o poder de ação bactericida (AGBOKE; ESIMONE, 2011; LEWIS *et al.*, 2002).

Newman e Cragg (2016) publicaram a origem de novos fármacos no período de 1981 a 2014, esta pesquisa evidenciou que cerca de 26% dos produtos eram de origem natural ou derivados de produtos naturais, havendo ainda aqueles onde o grupo farmacofórico tinha sua origem primária em um composto natural. Plantas são sempre uma fonte promissora de novas alternativas para terapêutica, sobretudo no combate às infecções (HEMAISWARYA; KRUTHIVENTI; DOBLE, 2008).

As plantas possuem mecanismos de defesa contra microrganismos que lhes causem danos, dentre estes mecanismos está a produção de moléculas através de um metabolismo especial considerado secundário, sendo as substâncias produzidas relacionadas às interações da planta com o meio ambiente (SIMÕES *et al.*, 2017).

A maioria destas moléculas secundárias possui atividade antibiótica de caráter muito mais brando do que a capacidade antibacteriana dos antimicrobianos produzidos por bactérias e fungos. No entanto, os compostos derivados de plantas possuem a capacidade de combater infecções com sucesso nestes espécimes, levando a comunidade científica a desenvolver profundo interesse nesta propriedade (BOR; GYAWALI; IBRAHIM, 2016; DOBLE, 2008; HEMAISWARYA; KRUTHIVENTI; MYKHAILENKO, *et al.*, 2017).

A interação entre dois compostos pode resultar em efeitos sinérgicos, aditivos, indiferentes ou antagônicos. O que se busca na associação é que os efeitos sejam sinérgicos, com o objetivo de que o efeito geral produzido pelos dois entes seja maior que os efeitos das substâncias individualmente, caso esta associação seja aditiva

apenas somam-se os efeitos de cada um, enquanto quando a interação é indiferente ou antagonica os compostos não modificam seus efeitos ou suas ações individuais são reduzidas (CASANOVA; COSTA, 2017; VAN VUUREN; VILJOEN, 2011).

O efeito sinérgico possui vantagens terapêuticas extremamente almejadas, caracterizando uma nova tendência de terapia múltipla, ampliando os alvos terapêuticos através de uma atividade multitarefa, muito útil em cenários de infecções resistentes. Os compostos em conjunto com suas atividades aumentadas apresentam maior eficiência (KWIATKOWSKI *et al.*, 2020; LIN; CHIN; LEE, 2005; WILLIAMSON, 2001). Além de uma maior eficiência, as associações sinérgicas promovem uma maior biodisponibilidade das substâncias envolvidas, sendo necessárias menores concentrações para o efeito terapêutico resultando em uma menor toxicidade (AELENEI, *et al.*, 2016; BASSOLÉ; JULIANI, 2012).

As duas moléculas envolvidas podem ativar o mesmo alvo receptor na célula, como enzimas, receptores, canais iônicos, proteínas, DNA / RNA, dentre outros, promovendo a transdução do sinal, ativando as ações de segundos mensageiros culminando em uma resposta, desta forma estes componentes agem de maneira sinérgica de acordo com seus efeitos farmacodinâmicos. Pode haver ação em alvos diferentes, atuando em locais diversos nas estruturas bacterianas. Esta interação beneficiada também pode manifestar-se em fenômenos farmacocinéticos, onde uma substância pode influenciar a outra em aspectos como solubilidade, absorção, distribuição, metabolismo e excreção, podendo até promover interações farmacológicas entre componentes (EFFERTH; KOCH, 2011; WAGNER; ULRICH-MERZENICH, 2009; YANG *et al.*, 2014).

Knezevic *et al.* (2016) encontrou sinergismo entre o óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis* (eucalipto comum) e os antimicrobianos ciprofloxacino, gentamicina e polymixina B frente às cepas de *Acinetobacter baumannii*. Fadli *et al.* (2011), encontrou sinergia entre os óleos essenciais de *Thymus maroccanus* e *Thymus broussonetii* (tipos de tomilho) em associação com cloranfenicol.

O óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) em combinação com os antimicrobianos aminoglicosídeos amicacina e gentamicina apresentou sinergia quando testados contra as estirpes de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (BARRETO *et al.*, 2014). O óleo de *Thymus saturejoides* Coss. quando combinado com cefixima, apresentou efeito sinérgico frente à cepas bacterianas incluindo *Klebsiella pneumoniae* (KASRATI *et al.*, 2014). *Satureja kitaibelii*, planta relacionada

ao alecrim e tomilho, quando associada com cloranfenicol e tetraciclina potencializou a ação dos antimicrobianos, tendo sua ação melhorada quando testados contra diversas cepas incluindo *Pseudomonas aeruginosa* (MILADINOVIĆ *et al.*, 2014).

Miladi *et al.* (2017) testou as atividades antibacterianas e antibiofilme de cinco óleos essenciais (OE): eugenol, carvacrol, timol, p-cimeno e g-terpineno, isolados e em associação com o antibiótico tetraciclina contra bactérias orais, o resultado foi de sinergismo entre os associados.

Um estudo fitoquímico elaborado por El Alama *et al.* (2015), avaliou a atividade anti-estafilocócica do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. e a possibilidade de interação sinérgica deste óleo com o antibiótico ciprofloxacino, neste estudo a associação destes compostos demonstrou sinergismo frente ao microrganismo *Staphylococcus aureus*.

Nascimento *et al.* (2007), testou a atividade do óleo de *Eremanthus erythropappus* (OE) e sua potencial interação sinérgica com a ampicilina contra diferentes cepas de *Staphylococcus aureus*, onde o sinergismo encontrado com esta associação mostrou ter potencial em restaurar a eficácia da ampicilina contra *S. aureus* resistente.

As plantas do gênero *Lippia* possuem atividades antibacterianas atribuídas principalmente aos óleos essenciais extraídos de seus representantes. As associações entre produtos oriundos de espécies do gênero e antimicrobianos vem demonstrando excelentes resultados, onde há frequentemente a potencialização dos efeitos dos fármacos envolvidos.

Seguindo a tendência de unir compostos naturais com antimicrobianos, Medeiros Barreto *et al.* (2014) utilizou extratos de diferentes frações obtidos da espécie *Lippia origanoides* H.B.K., que foram testados quanto à atividade antimicrobiana isoladamente e combinados com os antimicrobianos neomicina e amicacina contra cepa de *Staphylococcus aureus* (MRSA), os resultados promissores vieram das frações polares hexano e diclorometano que em associação com os antimicrobianos potencializaram a ação destes, permitindo uma melhor eficiência. A fração hexânica apresentou majoritariamente os compostos monoterpênóides carvacrol e timol, além de outros componentes minoritários, sendo a atividade destes compostos já conhecida cientificamente (LIOLIOS *et al.*, 2009). A fração diclorometano apresentou como composto majoritário o flavonoide naringenina. Neste estudo as frações hexânica e diclorometano apresentaram capacidade modulatória

dos antimicrobianos maior que seus compostos majoritários (carvacrol, timol e naringenina), quando testados isoladamente, indicando que a atividade dos extratos de plantas não se deve aos compostos majoritários isoladamente, mas provavelmente ocorre um sinergismo entre todos os componentes químicos que os constituem.

Veras *et al.* (2017) relatou a composição química do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. e determinou a potencialização da atividade de aminoglicosídeos e β -lactâmicos em associação com este óleo. Os compostos majoritários foram o timol, etil-metil-carvacrol e p-cimeno, havendo associações sinérgicas positivas entre óleo e antimicrobianos das classes em estudo.

Considerando o grave problema das infecções de sítio cirúrgico, agravadas pelos fios de sutura utilizados no fechamento deste tipo de ferida, associados à crescente resistência microbiana, o presente estudo possui como hipótese a elaboração de soluções antibacterianas para revestir fio de sutura de poliglactina, envolvendo a associação de um composto natural, representado pelo óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham., e os antimicrobianos ampicilina e ciprofloxacino.

A associação entre OELS e antimicrobianos tem por objetivo o sinergismo entre eles, potencializando a eficácia e inovando as pesquisas atuais em busca de novos revestimentos antibacterianos para fios de sutura, além do resgate clínico ao antibiótico ampicilina para o qual as bactérias apresentam resistência cada vez mais acentuada.

Devido aos diversos mecanismos, desenvolvidos pelos microrganismos ao longo de anos de evolução, para resistir aos medicamentos antimicrobianos, busca-se novas alternativas para combater infecções. Os produtos naturais desde de tempos remotos fornecem novas moléculas para terapêutica e muitos deles apresentam propriedades eficientes na erradicação de microrganismos patológicos, havendo a possibilidade de associá-los ao desenvolvimento de produtos para saúde com propriedades bioativas, a exemplo dos fios de sutura revestidos.

3.8 Fios de sutura e revestimentos antimicrobianos

Suturas cirúrgicas apresentam-se como o método mais comum para re aproximação de bordas de feridas originárias de procedimentos invasivos, em síntese, são um conjunto de manobras manuais e instrumentais destinadas a unir tecidos separados por traumas mecânicos ou procedimentos cirúrgicos eletivos,

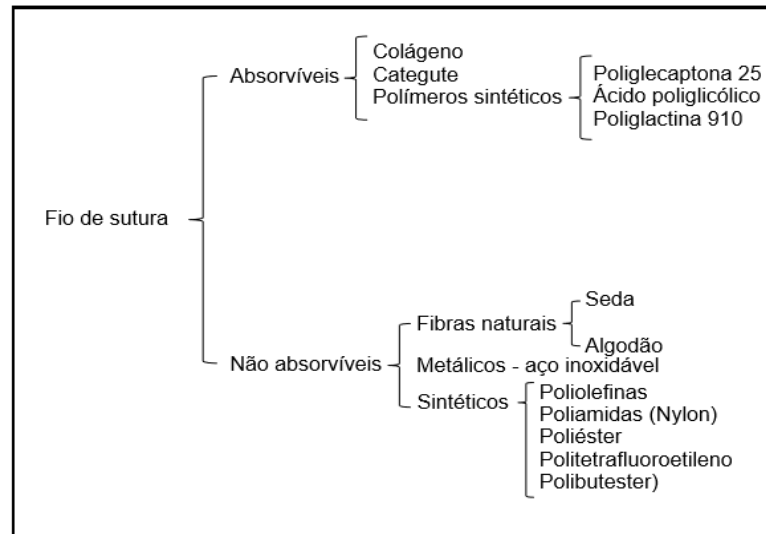
restituindo a continuidade anatômica e funcional de órgãos e tecidos orgânicos (KATHJU *et al.*, 2009; NETO *et al.*, 2015).

Apesar dos objetivos principais de cicatrização e cura, o procedimento de suturar é indicado como um dos fatores de infecção de extrema relevância, participando maciçamente dos índices de registro das ISCs. Dentre os múltiplos fatores de risco no ato de suturar está a capacidade de aderência bacteriana aos materiais utilizados neste procedimento, pois para a execução desta técnica é necessário o uso de materiais como fios de sutura, suas agulhas e fármacos anestésicos, dentre outros. A problemática se concentra majoritariamente nos materiais utilizados, sobretudo na utilização dos fios, devido ao contato íntimo deste com o tecido até a cicatrização total. O fio funciona como um corpo estranho e sua superfície propicia a colonização por microrganismos patogênicos, a exemplo das bactérias, que ao se aderirem multiplicam-se formando um biofilme altamente infeccioso (NADAFPOUR *et al.*, 2021; OWENS; STOESSEL, 2008; SANDERS *et al.*, 2013).

O fio para suturar deve ser forte, maleável, bem tolerado e esterilizável, uma vez que deve fornecer ao profissional segurança e resistência para executar o ato de suturar, e ao paciente conforto além de não provocar novas sintomatologias (SILVER *et al.*, 2016). Suas propriedades físico-químicas influenciam diretamente na utilização no meio cirúrgico, fatores como; rigidez, viscoelasticidade, flexibilidade, resistência ao executar os nós e área corporal onde está sendo realizada a cirurgia, direcionam o tipo e tamanho do fio a ser utilizado (ABHARI *et al.*, 2017)

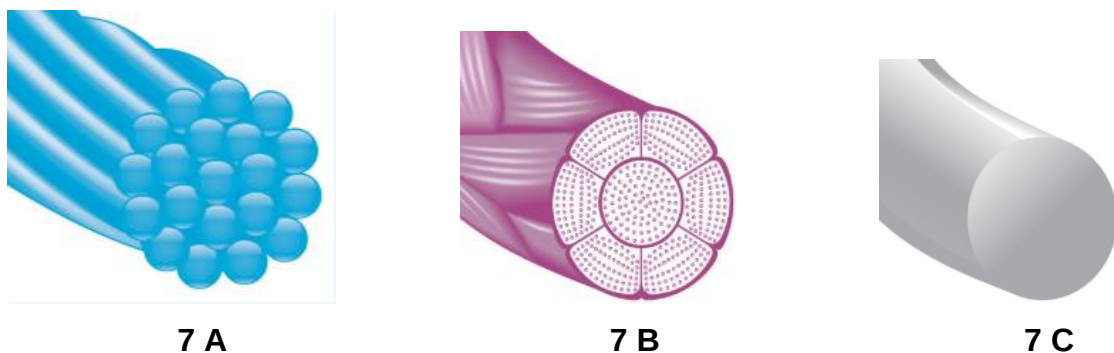
Inicialmente, os materiais utilizados para fechamento de feridas cirúrgicas possuíam origem natural, como tendão e fibras de algodão, o que promovia infecções constantes pela alta aderência bacteriana (GOEL, 2016; PELZ; TODTMANN; OTTEN, 2015).

Atualmente, os fios de sutura são classificados de acordo com sua origem, composição química, organização estrutural e absorção pelo organismo vivo (Figura 6).

Figura 6- Classificação dos fios de sutura.

Fonte: FARIAS, 2017.

Quanto a origem, os materiais de sutura podem ser naturais (constituídos de polímeros de origem vegetal ou animal), artificiais (obtidos por modificações químicas dos polímeros naturais) e sintéticos. Estruturalmente podem ser contínuos, com um único filamento em sua composição ou multifilamentados, onde mais de uma estrutura compõe o fio, estas estruturas podem estar arranjadas de forma torcida ou trançada (Figura 7).

Figura 7- Estrutura multifilamentar e monofilamentar de fios de sutura.

Fio de sutura torcido (7 A), trançado (7 B) e monofilamentar (7 C).

Fonte: [http:// biolinefios.com.br](http://biolinefios.com.br)

Uma vez em contato com o organismo vivo, o fio pode ser absorvível ou não, necessitando ser retirado após fechamento da ferida cirúrgica (EDLICH et al., 2010; GOEL, 2016; PELZ; TODTMANN; OTTEN, 2015).

A estrutura apresentada pelo fio determina seu comportamento, por exemplo, fios trançados e multifilamentares são mais facilmente colonizados por bactérias do que os formados por um único filamento, as reentrâncias formadas pelos multifilamentos propiciam esta adesão. Outro fator é a origem, fios confeccionados a partir de materiais naturais, como a seda, induzem uma maior resposta inflamatória pelos tecidos do paciente, fios confeccionados com ácido poliglicólico promovem maior aderência bacteriana quando comparados às suturas de polipropileno (LEKNES, *et al.*, 2005; MASINI *et al.*, 2011; PARIROKH, *et al.*, 2004).

Dentre os fios absorvíveis está o de Poliglactina 910 (Vicryl®) multifilamentar, trançado e de origem sintética. Em sua composição há ácido glicólico e L-lactida na proporção 9:1, este tipo de fio é muito utilizado para suturas em geral, possui excelente biocompatibilidade, ausência de reação tissular, alta resistência, baixa irritação, degradação controlada e moderada, distensão que promove um nó de segurança elevado, vantagens bastante estimadas pelos cirurgiões para uma boa cicatrização (SILVER *et al.*, 2016).

Apesar de todas as vantagens, o fio de poliglactina permite a colonização e permeabilidade por bactérias, elevando o risco de infecção. Além disso, por ser um material absorvível e estranho ao corpo humano, pode induzir efeito inflamatório desencadeando respostas imunes que levam à infecção na região da sutura (GRIGORAS *et al.*, 2016; MASINI *et al.*, 2011).

O Vicryl® Plus representa a única alternativa em comercialização para fios revestidos com substâncias antimicrobianas, consiste em um fio de poliglactina trançado revestido com o antimicrobiano triclosan, aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) nos EUA no ano de 2002 (TUMMALAPALLI *et al.*, 2016). Os fios revestidos com triclosano têm demonstrado através de publicações de estudos *in vivo* e *in vitro*, a redução significativa da incidência de infecção em procedimentos cirúrgicos, no entanto, essa eficiência vem declinando, pelos já conhecidos mecanismos de resistência bacterianos (KARDE; JOSHI, 2016; KATHJU *et al.*, 2009; KRUTHI *et al.*, 2014; NETO *et al.*, 2015; OBERMEIER *et al.*, 2014; UENO *et al.*, 2015).

O triclosan é um derivado do fenol com propriedades antibacterianas, inibe a síntese de ácidos graxos em bactérias, sendo muito utilizado em produtos de higiene como sabonetes, pasta de dentes e enxaguatórios bucais. Suas propriedades antimicrobianas proporcionam a redução da adesão bacteriana no fio de sutura, diminuindo consequentemente os índices de ISC. O uso disseminado do composto

em diversos produtos, desenvolveu resistência bacteriana em humanos e animais, tornando seu uso gradativamente obsoleto como revestimento para fios (COPITCH; WHITEHEAD; WEBBER, 2010; EDMISTON *et al.*, 2006; GILBERT; MCBAIN, 2002; KRUTHI *et al.*, 2014; SETHI; KARDE; JOSHI, 2016). Outra desvantagem atribuída ao uso do triclosan, são os produtos tóxicos gerados com seu metabolismo, justificando a busca por substâncias alternativas para uso futuro como substituinte.

Devido às complicações e danos à saúde causados pelas ISC's e o reconhecimento da participação dos fios de sutura neste índice, há um crescente interesse da comunidade científica em conhecer melhor a dinâmica desta correlação e técnicas empregadas para reduzir os registros de infecção. As pesquisas se direcionam para o desenvolvimento de fios com propriedades aprimoradas para realizar o fechamento da ferida, assim como metodologias utilizadas para combater a infecção através da utilização de suturas revestidas ou impregnadas com agentes antimicrobianos na tentativa de impedir a adesão e o crescimento de microrganismos (FLORES-ROJAS *et al.*, 2017; LÓPEZ-SAUCEDO *et al.*, 2018).

Masocatto *et al.* (2021) avaliou a eficácia antimicrobiana sinérgica de enxaguatórios bucais contendo timol e carvacrol quando comparados aos enxaguatórios bucais com clorexidina 0,12%. Pacientes extraíram o terceiro molar inferior e foi utilizado fio de seda para suturar, um grupo controle realizou bochechos com clorexidina 0,12% e outro grupo experimental realizou bochechos com solução de timol 0,05% e carvacrol 0,025%. As suturas removidas dos pacientes foram analisadas microbiologicamente e chegou-se a conclusão de que o enxaguatório à base de timol e carvacrol apresentou eficácia antimicrobiana na aderência bacteriana e formação de biofilme no fio de seda, demonstrando que os novos compostos antissépticos demonstram ser um segmento favorável para o desenvolvimento de pesquisas envolvendo fios de sutura.

Iovino *et al.* (2017) ao analisar fios de sutura absorvíveis retirados de feridas cirúrgicas, observou que as ISC's se desenvolvem preferencialmente em pacientes onde o fio foi colonizado pela adesão de bactérias. A fonte de contaminação provém em maior proporção da própria flora natural da pele, agravada pela presença de um corpo estranho propício que promove adesão e formação de biofilme funcionando como foco da infecção representando risco para cicatrização das feridas, gerando complicações como bacteremia, abscessos e endocardites, podendo chegar a causar infecções generalizadas (KATZ *et al.*, 1981; SETHI; KARDE; JOSHI, 2016). Dentre os

inúmeros cuidados aplicados durante o procedimento cirúrgico, no intuito de reduzir infecções, está o uso de fios revestidos com agentes antimicrobianos, procedimento recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), mas que carece de estudos envolvendo esta temática para que haja uma maior consolidação de resultados (ALLEGIANZI *et al.*, 2018).

Os diversos esforços que acontecem no meio científico para descoberta de novos revestimentos, visam o aumento de eficácia contra a resistência demonstrada por bactérias em feridas oriundas de suturas, trazendo resultados promissores de novos materiais com esta finalidade. Muitos estudos apresentam resultados positivos em relação à diminuição da aderência bacteriana quando os fios são revestidos com substâncias antimicrobianas, formando uma linha de pesquisa onde fios revestidos com atividade antibacteriana são fonte de pesquisa em todo o mundo, aplicando o desenvolvimento de diversas abordagens, criadas com a finalidade de prevenir colonização microbiana no material utilizado em incisões cirúrgicas (ALEXANDER; SOLOMKIN; EDWARDS, 2011; CHEN *et al.*, 2015; MASOOD *et al.*, 2017; BAYGAR *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2021).

OBERMEIER *et al.* (2015) testou um novo revestimento antimicrobiano para fio a base da substância octenidine, demonstrando alta eficácia inclusive a longo prazo contra *Staphylococcus aureus* além de apresentar alta biocompatibilidade.

De Paula *et al.* (2014) utilizou fio de sutura de algodão revestido com eugenol em diferentes concentrações, o eugenol é um fenilpropanoide amplamente utilizado devido a suas propriedades antisséptica, antimicrobiana, anestésica, analgésica, antioxidante e anti-inflamatória, o revestimento reduziu a formação de biofilme, minimizando infecções bacterianas associadas as feridas de sítios cirúrgicos. Chen *et al.* (2015) criou uma formulação de revestimento para aplicação em fio de seda trançado, este revestimento foi composto por uma mistura antibacteriana de cloridrato de levofloxacina e poli (ϵ -caprolactona). Neste estudo foi abordado além do poder antimicrobiano do revestimento, diferentes processos para técnica utilizada. Os resultados apresentados evidenciaram que quando as superfícies dos fios foram revestidas e fotografadas microscopicamente, elas apresentaram estruturas mais ordenadas comparando com os fios sem revestimento, adicionalmente os fios revestidos reduziram a formação de biofilme consideravelmente.

López-Saucedo *et al.* (2018) aplicou um revestimento de nitrato de prata irradiado sobre fios de polipropileno que inibiu o crescimento bacteriano de forma eficaz.

A tecnologia vem auxiliando de forma robusta a descoberta de novos produtos com o objetivo de modernizar a sutura e evitar infecções resultantes deste processo, em um estudo inovador Catanzano *et al.* (2014) projetou suturas bioativas compostas à base de poli (ϵ -caprolactona) carregadas com o fármaco anti-inflamatório diclofenaco, este novo material foi testado em relação a suas propriedades mecânicas e comportamento em tecido animal sugerindo um possível uso na prática cirúrgica.

Seguindo a mesma linha, Scaffaro *et al.* (2013) produziu fibras monofilamentares de poli (caprolactona) em associação com clorexidina, estas fibras não tiveram suas propriedades de tração alteradas pelo antisséptico, que por sua vez conferiu propriedade antimicrobiana à fibra confirmada através de testes *in vitro* frente a cepas bacterianas, sendo mais um promissor candidato como material para dispositivos médicos.

As infecções de sítio cirúrgico (ISCs) são um problema de saúde pública que ocorre quando patógenos proliferam em feridas impedindo a cicatrização, causando separação das bordas da ferida (deiscência) e aumentando o risco de abscesso em tecidos mais profundos, podendo progredir para uma infecção sistêmica. As suturas contribuem para este quadro devido à adesão e colonização bacteriana. Com o intuito de evitar a contaminação, suturas impregnadas ou revestidas com agentes antibacterianos tem sido desenvolvidas (MINGMALAIRAK, 2011).

Portanto, suturas revestidas representam uma alternativa para o problema de ISC, como vários estudos vêm demonstrando. Os resultados promissores corroboram para o surgimento de novas alternativas de enfrentamento para as consequências nocivas à saúde que frequentemente acometem os procedimentos cirúrgicos. A presente proposta possui como objetivo fornecer uma ideia inovadora para aumentar a segurança e eficácia na utilização de materiais em processos cirúrgicos, reduzindo índices de infecção, promovendo cada vez mais uma maior expertise para profissionais que realizem o procedimento.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A planta *Lippia sidoides* Cham., foi coletada no município de João Pessoa – PB no Horto de Plantas Medicinais da UFPB, localizado no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM), no período de 2014 a 2018.

A coleta da planta, extração do óleo essencial e caracterização química, fizeram parte da tese de doutorado pertencente ao programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos Santos, intitulada como “Desenvolvimento e avaliação de espuma dental, contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. para prevenção e tratamento de lesões bucais”, da aluna Alessandra Estevam dos Santos, membro do grupo de pesquisa do LABIAL sob a supervisão do professor Dr. Fábio Correia Sampaio. Um dos objetivos do estudo foi avaliar a sazonalidade em relação à composição química do óleo extraído. No ano de 2016 foi extraído o OELS e analisado seus componentes químicos de Janeiro a Dezembro do referido ano.

Para a execução do presente trabalho, foi utilizado o óleo extraído da planta coletada no mês de Janeiro de 2016, com registro SisGen de número ABDE352, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Os dados de caracterização do óleo foram compartilhados gentilmente pela aluna Alessandra, em caráter de colaboração científica com os demais alunos pertencentes ao grupo de pesquisa do LABIAL.

4.1 Obtenção do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (OELS)

As partes aéreas da planta foram coletadas de arbustos adultos no Horto de Plantas Medicinais da UFPB, no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM), localizado no município de João Pessoa, Paraíba, nordeste do Brasil com coordenadas de 43 metros de altitude, Latitude: 7° 6' 55" Sul, Longitude: 34° 51' 40" Oeste, no período de 2014 a 2018. A identificação botânica da planta foi realizada pela Profa. Dra. Rita B. Lima, e a exsicata foi incorporada, sob o número JPB 47237, ao acervo do Herbário Prof. Lauro Pires Xavier na UFPB.

A extração do óleo foi realizada no Laboratório de Fitoquímica, sob a orientação do Prof. Dr. Raimundo Braz Filho, no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) da UFPB, a técnica utilizada foi o arraste à vapor de água,

sendo usado o equipamento mini destilador de óleos essenciais (Modelo D2- v5.2-Linux).

4.2 Caracterização do OELS

A densidade do óleo essencial foi determinada, utilizando um picnômetro de 5,0 mL, previamente seco, tarado e aferido, onde se adicionou a amostra à 25 °C, pesando-a em seguida e calculando a diferença de peso do picnômetro vazio e do picnômetro contendo a amostra. A partir do valor de massa obtido, a densidade foi calculada, usando a fórmula: $\text{Densidade} = m/v$. O pH do óleo foi verificado por potenciometria em quatro repetições.

A caracterização dos constituintes químicos do óleo essencial de *L. sidoides* foi realizada através de cromatografia gasosa acoplada a um detector de massa (CGMS), com a finalidade de determinar o percentual de cada um dos constituintes encontrados.

4.3 Avaliação da composição química do OELS

A caracterização dos constituintes químicos foi realizada através de cromatografia gasosa acoplada a um detector de massa (CG-EM), para verificação, em forma de percentual, da participação de cada metabólito na composição final do óleo. Esse teste foi realizado no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LCMA) no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) na Universidade Federal da Paraíba (UFPB), sendo utilizado um cromatógrafo gasoso da marca Shimadzu, modelo GCMS-QP 2010 Ultra com coluna da marca RTX-5MS capilar (5% Difenil / 95% dimetilpolisiloxano) com tamanho de 30m (comprimento) / 0.25 mm de diâmetro Interno / 0.25 μm .

A fase móvel foi composta de hélio e bombeada na vazão de 1,6 mL.min⁻¹ e a temperatura do forno da coluna foi programada para passar de uma temperatura inicial de 60°C a 90°C a 5°C/min., permanecendo a 90°C por 15 minutos e de 90°C a 280°C a 20°C/min. A temperatura do injetor e do detector foram 260 e 280°C, respectivamente. O tempo total de corrida foi de 30 minutos e o volume de injeção foi de 1,0 μL .

A porcentagem relativa de componentes individuais foi obtida a partir das áreas dos picos e os componentes dos óleos essenciais foram identificados pela comparação de seus índices de retenção e espectros de massa com os dados encontrados na literatura e biblioteca do equipamento (Bancos de Dados: NIST2008 | NIST2008+Shimadzu | FFNSC 1.3).

4.4 Testes de avaliação da atividade antimicrobiana

4.4.1 Materiais e microrganismos

Solução salina 0,9% obtida a partir de NaCl (Sigma®), BHI caldo e BHI ágar (Brain Heart Infusion, Kasvi® Brasil) solução de clorexidina 0,12% (Sigma®), Tween® 80 5% (Sigma®), resazurina 0,01% (Sigma®), OELS, extraído na UFPB, Ampicilina sódica (Teuto ®) e Ciprofloxacino (Fagron ®). Placas de microdiluição com 96 poços em “U” estéreis (TPP, Brasil) e placas para microdiluição com 96 poços de fundo chato estéreis (TPP, Brasil).

Os microrganismos estudados foram: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 27853); *Staphylococcus aureus* (ATCC®15656) e *Escherichia coli* (ATCC ® 25922).

4.4.2 Cultivo e preparação do inóculo para os testes microbiológicos

As cepas de cultura-estoque, das três espécies bacterianas em estudo, são mantidas em congelador e foram retiradas e deixadas em repouso em bancada de fluxo laminar até atingirem a temperatura ambiente (TA), posteriormente foi transferido 0,3 mL (300 µL) do inóculo para um tubo de ensaio esterilizado, contendo 7mL (7000µL) de meio BHI (Brain Heart Infusion, Kasvi®), o tubo contendo inóculo mais meio de cultura foi incubado a $\pm 37^{\circ}\text{C}$, por 24h, após este período foi centrifugado por 10 minutos para retirada do sobrenadante e ressuspendido em solução salina estéril (NaCl 0,9%) realizando o ajuste por meio do espectrofotômetro FLUORstar OPTIMA®, sendo a absorbância observada em um comprimento de onda de 540nm, até a obtenção de uma suspensão padronizada equivalente a 0,5 da escala McFarland (equivalente a aproximadamente 10^8 Unidades Formadoras de Colônias – UFC.mL⁻¹).

Todos os experimentos realizados tiveram o inóculo bacteriano padronizado.

4.4.3 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

As concentrações inibitórias mínimas do óleo essencial de *L. Sidoides*, e dos antimicrobianos ampicilina e ciprofloxacino foram realizadas frente às cepas das bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Os microrganismos foram escolhidos, por estes espécimes serem comumente isolados de feridas cirúrgicas infectadas (SIEVERT *et al.*, 2013; SENGUPTA *et al.*, 2014).

O teste foi realizado no LABIAL, laboratório localizado na UFPB, utilizando capela de fluxo laminar e materiais previamente autoclavados. A técnica utilizada foi a de microdiluição em placa, conforme descrito pelo Manual do Instituto de padronização clínica e laboratorial (CLSI - Clinical Laboratory Standard Institute, 2015). Testes também foram realizados no laboratório de microbiologia da Universidade Estadual da Paraíba sob a orientação da Profa. Dra. Patrícia Maria de Freitas e Silva.

4.4.3.1 Ensaio de microdiluição para determinação da CIM

Para determinação foi utilizada a técnica de microdiluição adaptada. Foram elaboradas soluções de OELS, ampicilina e ciprofloxacino. Para a solução de OELS foi adicionado 5% de Tween 80® com a função de tensoativo, por efeito da hidrofobicidade do óleo, já que existe a dificuldade de misturá-lo a solução aquosa de antibiótico, sendo o Tween-80 um surfactante e emulsificante não iônico para homogeneização da solução (BUENO-SANCHEZ *et al.*, 2009).

Para ambos os componentes em teste, foram elaboradas inicialmente uma solução mãe de concentração mais elevada, sendo a partir desta elaborada a solução estoque e em seguida a solução teste diluída em caldo BHI, sendo esta última a utilizada para o experimento de microdiluição.

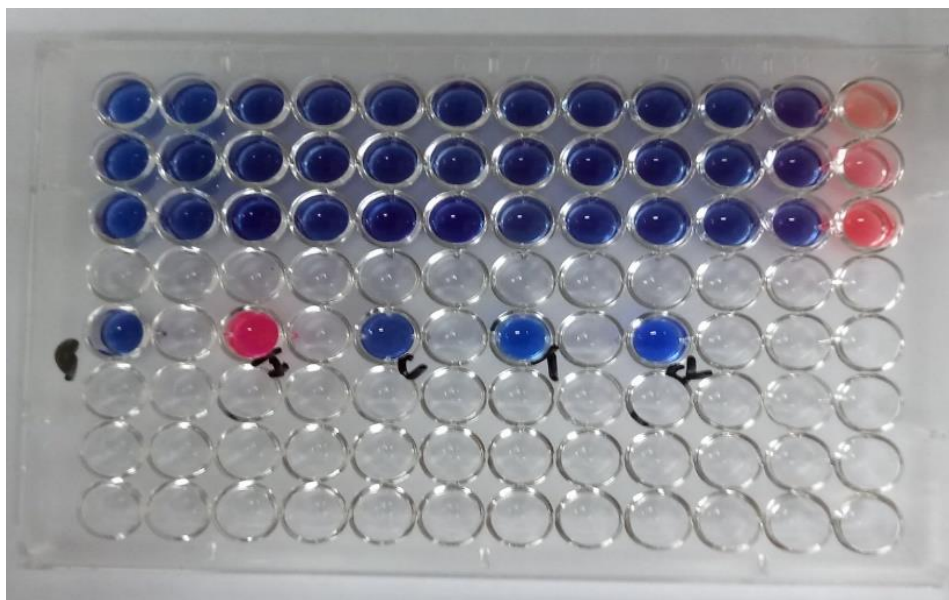
Para execução da técnica foi utilizada microplaca esterilizada com fundo “U” de 96 poços distribuídos em 8 linhas e 12 colunas, onde foram adicionados em cada poço da placa, 100 µL de caldo do meio de cultura Brain Heart Infusion (BHI- Sigma, St. Louis, Missouri, USA). Foram testadas concentrações decrescentes de OELS e dos antimicrobianos ampicilina e ciprofloxacino, o inóculo bacteriano (20%) foi adicionado por último. A placa contendo meio de cultura, substâncias teste, em concentrações decrescentes, foram incubadas em estufa microbiológica por 24 h de 35- 37 °C. Após o período de incubação, as CIMs foram determinadas visualmente através da prova

da resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido), um indicador de óxido-redução de cor azul que, na presença de células viáveis é oxidado a resofurina, substância de coloração vermelha ou rosado (RAMPERSAD, 2012). Foram adicionados a todos os poços da placa 35 μ L do indicador, o teste terminou com a mudança de cor dos poços de azul para róseo após 30 minutos de contato com o corante, a coloração azul indicou ausência de crescimento bacteriano enquanto a cor rósea indicou a presença de células viáveis para crescimento conforme ilustrado na Figura 8 (PALOMINO, *et al.*, 2002; SAKER, *et al.*, 2007). Foi realizado ainda um controle positivo feito com clorexidina a 0,12% preparada laboratorialmente (Sigma São Paulo, Brasil) e estabeleceu-se o crescimento livre da bactéria em meio de cultura.

Para cada espécie de bactéria foram realizados experimentos de microdiluição em triplicata.

A CIM foi interpretada como sendo a menor concentração da droga capaz de inibir o crescimento visível de um organismo após o período de 24 horas de incubação.

Figura 8 – Placa de microtitulação ilustrando o experimento de CIM.



Fonte: Própria autora.

4.4.4 Concentração inibitória fracionada CIF (*checkerboard*)

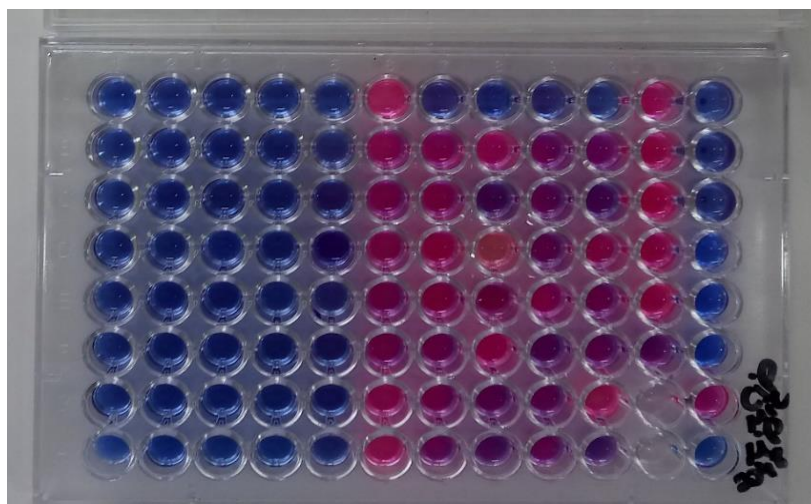
Com o intuito de avaliar o efeito sinérgico do óleo essencial com a ampicilina foi utilizada a técnica de microdiluição modificada para o ensaio *checkerboard* de acordo com a metodologia descrita segundo Pillai e Moellering (2005).

O OELS foi testado em combinação, com ambos antimicrobianos (OELS x ampicilina e OELS x ciprofloxacino) frente a cada microrganismo do estudo. Tanto o OELS quanto os antimicrobianos foram testados em diferentes concentrações a partir da CIM, obtida em ensaios anteriores para cada microrganismo, sendo preparadas as soluções iniciais na concentração correspondente à 4x a CIM.

Na placa de 96 poços de fundo em “U” foram realizadas as diluições de forma a se obter as concentrações equivalentes à 4 x CIM, 2 x CIM, CIM, CIM/2, CIM/4, CIM/8, CIM/16 e CIM/32.

Inicialmente, 100 µL de caldo BHI foram adicionados nos poços das placas de microdiluição. O OELS teve sua concentração decrescente da esquerda para direita no sentido vertical e o antimicrobiano teve sua concentração decrescente de cima para baixo no sentido horizontal da placa. A diluição foi realizada de forma que cada poço apresentasse as duas substâncias de forma combinada e com concentrações definidas. Por fim, adicionou-se 20 µL da suspensão bacteriana previamente padronizada. As placas foram incubadas a 35-37 °C por 24h e depois avaliadas quanto ao crescimento bacteriano. A viabilidade celular foi visualizada pelo indicador redox sensível à resazurina como demonstra a Figura 9.

Figura 9 - Placa ilustrando o experimento de *checkerboard*.



Fonte: Própria autora.

Os índices de concentração inibitória fracionada (CIF) foram calculados para avaliar a interação de cada combinação das drogas. O ICIF (Índice da Concentração Inibitória Fracionada) foi calculado através da soma do CIFA+CIFB, onde A representa o óleo essencial e B representa a ampicilina e a ciprofloxacina. O CIF é calculado através da relação CIM A combinado/CIM A sozinho, enquanto o CIF B = CIM B combinado/CIM B sozinho. Este índice é interpretado conforme o resultado obtido, onde: CIF $\leq 0,5122$ indica sinergismo; CIF $> 0,5$ e < 1 aditividade; CIF ≥ 1 e < 4 indiferença e CIF ≥ 4 antagonismo. O sinergismo foi avaliado conforme o quadro abaixo (BERDITSCH, *et al.*, 2015; DIDRY *et al.*, 1993; LEWIS, *et al.*, 2002).

Quadro 1 - Interpretação de resultados para as concentrações inibitórias fracionadas (ICIFs)

Intepretação para CIF	Resultados do CIF
Sinergismo	$\leq 0,5$
Aditividade	$>0,5$ e <1
Indiferença	≥ 1 e <4
Antagonismo	≥ 4

4.4.5 Determinação de biofilme bacteriano pela técnica de Cristal Violeta

A formação de biofilme formado pelas cepas de *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *E.coli* foi avaliada em placas de microdiluição de poliestireno pelo método de Cristal Violeta descrito por O'Toole (2011). Esta etapa foi realizada em duas fases, primeiramente cada substância foi testada isoladamente frente a formação de biofilme dos espécimes bacterianos, em um segundo momento foram realizados experimentos com as substâncias em associação (OELS x ampicilina; OELS x ciprofloxacino).

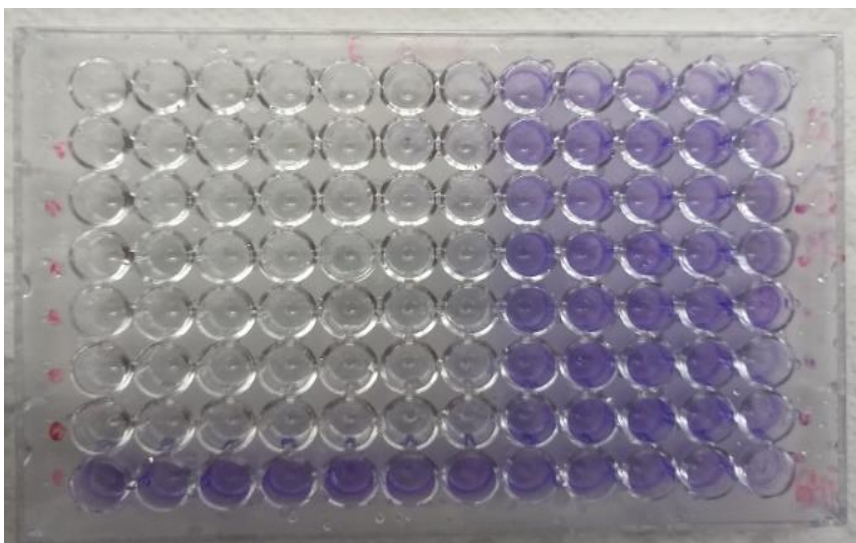
O procedimento de microdiluição foi realizado com concentrações decrescentes dos compostos em teste, no caso dos testes realizados com as substâncias em associação as concentrações foram baseadas nas definidas como sinérgicas pelo experimento de *checkerboard*, em seguida, o inóculo bacteriano padronizado em escala McFarland (20%) foi adicionado.

Após a microdiluição as placas foram incubadas em estufa a 35-37 °C por 24h para formação do biofilme, em seguida o conteúdo da placa foi despejado ficando apenas a massa de biofilme bacteriano no fundo do poço. A placa foi submergida em cuba com água estéril para remoção das células não conectadas e componentes do meio que possam ser corados. Em seguida adicionou-se 125 µl de solução a 0,1% de cristal de violeta a cada poço da placa, ficando esta em repouso na temperatura ambiente por 10-15 minutos, o objetivo é a coloração da massa de biofilme bacteriano, novamente a placa foi submergida em cuba com água estéril para retirada do excesso do cristal de violeta. O cristal de violeta é um corante básico que se liga a moléculas de superfície carregadas negativamente, incluindo bactérias vivas e mortas assim como polissacarídeos da matriz.

Após a coloração dos poços foram adicionados 125 µl de ácido acético a 30% a cada poço da placa, com o objetivo de solubilizar o biofilme corado com cristal de violeta, conforme Figura 10. Ficando em repouso à temperatura ambiente por 10-15 min. O conteúdo dos poços, biofilme corado com cristal de violeta mais o ácido, foi transferido para uma nova microplaca de fundo chato e quantificada a absorbância num leitor de placas da marca OPTIMA em comprimento de onda de 560 nm utilizando ácido acético a 30% como branco. Para todas as avaliações foi realizado um controle negativo onde a bactéria cresceu livremente em meio de cultura. Para cada microrganismo foram realizados experimentos em triplicata referentes às três substâncias testadas isoladamente e em associação.

Para interpretação dos dados foram considerados os valores médios da leitura de absorbância do conteúdo dos poços, onde um maior número de absorbância indica maior quantidade de biofilme formado, comparando-os com o controle de formação de biofilme livre (inóculo bacteriano mais meio de crescimento).

Figura 10 – Placa de microtitulação representando o experimento de formação de biofilme pela técnica de Cristal Violeta



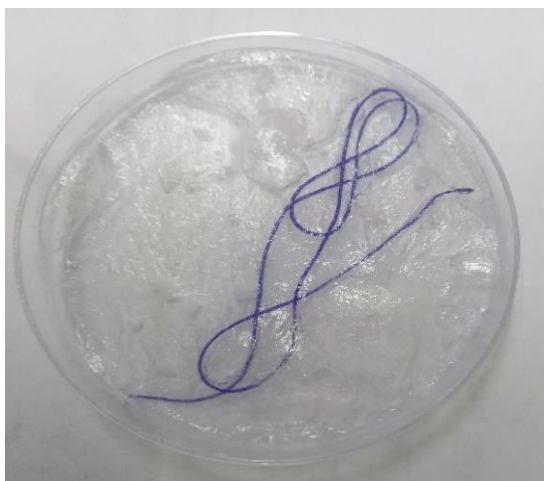
Fonte: Própria autora.

4.4.6 Desenvolvimento de solução antimicrobiana para revestimento em fio de sutura cirúrgico

Os revestimentos para o fio cirúrgico foram preparados baseados na técnica descrita por Obermeier *et al.* (2014, 2015). Onde duas substâncias, assim como os agentes antimicrobianos em teste, foram adicionadas formando uma solução. Junto a esta solução foi imerso o fio de sutura de 40cm de Poliglactina 910 (Vycril®, Ethicon Livingston, Scotland), diâmetro de 2.0, como visto na Figura 11. Após os fios terem recebido a solução antimicrobiana de revestimento, os mesmos foram cortados no tamanho de 2cm, utilizando lâmina de bisturi e luvas estéreis.

O procedimento para revestir, com as soluções antimicrobianas, o fio de sutura de poliglactina, rendeu uma patente de invenção, que se encontra sob o número de depósito BR10 20210223200 no Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

Figura 11 - Fio imerso em solução de revestimento.



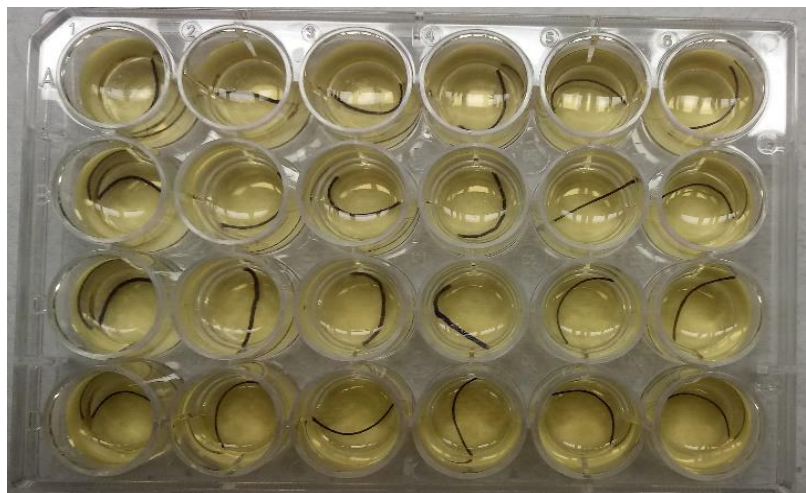
Fonte: própria autora.

4.4.6.1 Formação de biofilme em fio de sutura revestido

Com o intuito de observar a eficácia do novo revestimento para fio de sutura, os fios revestidos foram submetidos ao teste de formação de biofilme, tendo em vista que os biofilmes formados nas fibras dos fios constituem um fator importante para as ISCs. Como controle positivo foi utilizado o fio de Poliglactina 910 -Vycril® Plus contendo triclosan, e como controle negativo foi utilizado o fio de sutura Poliglactina 910 Vycril® sem triclosan.

Fragmento de 2 cm dos fios revestidos com solução antimicrobiana e dos controles positivo e negativo, foram imersos em placas de poliestireno de fundo chato para cultura de células de 24 poços contendo 1,6 mL de BHI caldo e 0,4 mL do inóculo bacteriano *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* conforme Figura 12. As placas foram incubadas em estufa microbiológica a 37°C por 24 horas. Após o período de incubação, os fragmentos de fio foram mergulhados em 2 mL de solução salina a 0,9% para remoção das bactérias não aderidas, em seguida, o fio foi dispensado em outro poço contendo 2 mL de solução salina a 0,9% e conduzido ao aparelho sonificador (Ultrasonic cleaner®) por 5 minutos na velocidade de 4,5 rpm, uma alíquota de 100 µL foi retirada de cada poço e transferida para uma placa de poliestireno de fundo chato de 96 poços e em seguida levada para leitura em espectrofotômetro OPTIMA®, sob o programa Optima – Data analysis.

Figura 12 – Placa de 24 poços contendo inóculo bacteriano, fragmentos de fio de sutura revestidos e controles positivo e negativo.



Fonte: própria autora.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do OELS

A densidade do óleo essencial de *L. sidoides* Cham. foi determinada a partir do valor de massa obtido e a densidade foi calculada, resultando em um valor de 0,9432 g.mL⁻¹. Alguns estudos trazem valores semelhantes como o de Reis (2010) que relatou a densidade do OELS como sendo 0,9340 g.mL⁻¹.

5.2 Avaliação da composição química do OELS

Como dito anteriormente, a fração do óleo utilizada no presente estudo foi a do mês de Janeiro de 2016, portanto, os dados expostos foram retirados da tese de Dos Santos (2019). O objetivo da avaliação da composição química seria a detecção dos compostos secundários presentes na planta, uma vez que vários autores conferem a potencialidade antimicrobiana de acordo com o perfil químico apresentado pelo óleo essencial. A análise do OELS através do espectro de CG-EM obtido a partir das partes aéreas da planta resultou na identificação de diversos compostos listados na Tabela 1. O componente majoritário detectado foi o timol (76,29%), seguido do E-cariofileno, p-cimeno, β -mirceno e γ -terpineno (DOS SANTOS, 2019). O timol como composto

majoritário já era esperado, uma vez que, o timol já é reconhecido como o composto que confere a propriedade antimicrobiana do OELS (SARAIVA *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2014). O cromatograma do óleo é apresentado na Figura 13.

Figura 13 - Cromatograma do OELS (Janeiro/2016) por CG-EM.

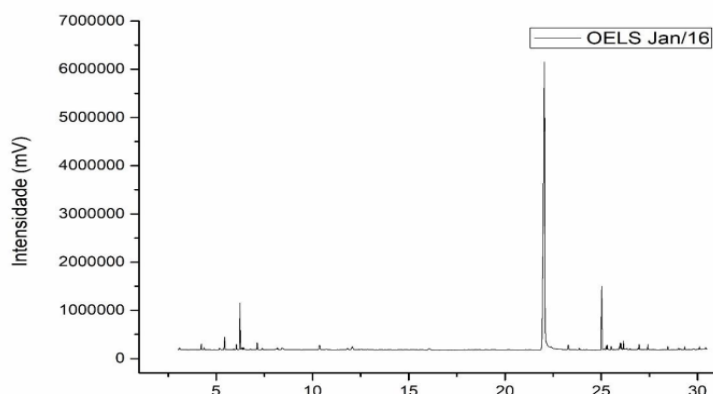


Tabela 1 - Composição química do óleo essencial de *L. sidoides* Cham. extraído no mês de janeiro de 2016. Componentes listados em ordem de eluição.

Componente	Tempo de retenção (minutos)	Concentração (%)
α -Tujeno	4.228	0,49
α -Pineno	4.375	0,21
β-Mirceno	5.432	1,16
Terpinoleno	6.047	0,54
<i>p</i>-Cimeno	6.234	4,62
<i>D</i> -Limoneno	6.338	0,22
Eucaliptol	6.421	0,21
β -Ocimeno	6.788	0,08
γ-Terpineno	7.133	0,82
<i>Cis</i> -beta-Terpineol	7.394	0,18
β -Linalol	8.423	0,24
Ipsidienol	10.364	0,81
Eucarvone	11.816	0,31
Terpinen-4-ol	12.062	0,64
Timol metil éter	16.071	0,42

Timol	22.044	76,29
Carvacrol	22.387	0,16
E-Cariofileno	25.016	5,28
Cis-alfa-Bergamoteno	25.250	0,32
Aromadendreno	25.306	0,39
α -Humuleno	25.512	0,28
Viridifloreno	26.032	0,45
β -Bisaboleno	26.144	0,65
Óxido de Cariofileno	26.956	0,45

Fonte: DOS SANTOS, 2019.

5.3 Testes de avaliação da atividade antimicrobiana

5.3.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

Os resultados das análises de atividade antimicrobiana, dos compostos em estudo, foram obtidos através do método de microdiluição e estão representados na Tabela 2.

Tabela 2 - Atividades antimicrobianas do OELS, ampicilina e ciprofloxacino pelo método de microdiluição, representadas através da concentração inibitória mínima (CIM).

Microrganismos	OELS	Ampicilina	Ciprofloxacino
	CIM $\mu\text{g/mL}$	CIM $\mu\text{g/mL}$	CIM $\mu\text{g/mL}$
<i>Staphylococcus aureus</i>	512	512	0,610
<i>Escherichia coli</i>	1.024	512	0,0313
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.024	2.500	1,0

Experimento realizado em triplicata.

Os resultados dos ensaios de microdiluição demonstraram ser favoráveis no que concerne em inibir o crescimento bacteriano das cepas estudadas.

Em relação ao OELS os valores encontrados para CIM demonstraram uma maior efetividade para a bactéria gram-positiva *S. aureus*, em comparação com as outras cepas gram-negativas *E. coli* e *P. aeruginosa*. Essa maior efetividade em inibir o crescimento bacteriano fica evidente, pois, para produzir este efeito no crescimento de *S. aureus* é necessária uma menor concentração de óleo essencial (512 µg/mL) que para as demais cepas (1.024 µg/mL). Esse resultado está de acordo com os encontrados na literatura que demonstram que a maioria dos óleos essenciais possuem um efeito mais pronunciado sobre as bactérias gram-positivas, sendo as gram-negativas mais resistentes, devido às diferenças na composição da membrana celular bacteriana que as reveste (HOLLEY; PATEL, 2005; OLADIMEJI; ORAFIDIYA; OKEKE, 2004). O mesmo foi observado por Oliveira *et al.* (2006), onde *Lippia sidoides* mostrou efeito sinérgico com ampicilina e dentre as cepas estudadas por este grupo, o *S. aureus* também demonstrou maior sensibilidade.

Uma explicação para a maior sensibilidade de organismos gram-positivos, seria o fato de os componentes hidrofóbicos penetrarem facilmente a parede celular de peptideoglicano, agindo assim no citoplasma. Os gram-negativos, apesar de portarem uma fina camada de peptidoglicano, possuem uma membrana externa adicional, composta por fosfolipídeos e proteínas, sendo 30% de uma lipoproteína, o lipopolissacarídeo, representando uma barreira molecular que previne ou dificulta a entrada de agentes externos que danifiquem o microrganismo, lipoproteínas ligadas aos peptideoglicanos e lipopolissacarídeos funcionam como endotoxinas nocivas aos microrganismos (PÉREZ ZAMORA *et al.*, 2018).

Observa-se uma falta de consenso entre os diferentes pesquisadores quando se trata de metodologia a ser adotada para avaliação da atividade antimicrobiana de um produto natural e sobre um valor aceitável para definição da concentração inibitória mínima (CIM). Uma justificativa para o fenômeno seria as variações de composição dos compostos naturais, em decorrência de fatores como solo, clima, espécie, incidência solar, técnicas de extração, parte da planta utilizada dentre outros (ALIGIANNIS *et al.*, 2001; HOLETZ *et al.*, 2002).

Os resultados de CIMs do presente estudo corroboram com os valores encontrados por Veras *et al.* (2017). Neste estudo o OELS foi extraído no ano de 2010 na cidade do Crato no estado do Ceará e em sua análise química os principais constituintes detectados foram timol (84,9%), etil-metil-carvacrol (5,33%) e p-cimeno (3,01%) e os autores atribuíram ao timol a atividade antimicrobiana apresentada pelo óleo, afirmando que não houve diferenças no

efeito antimicrobiano entre EOLS e o composto timol testado isoladamente, utilizando o método de microdiluição contra as bactérias do estudo.

No presente trabalho, os compostos encontrados majoritariamente foram, timol (76,29%), E-cariofileno (5,28%) e p-cimeno (4,62%), conforme exposto na Tabela 1, representando as variações na composição dos óleos quando comparados estudos realizados em áreas geográficas diferentes sob diferentes condições de cultivo.

Em relação as CIMs encontradas por Veras *et al.* (2017) os valores encontrados foram: 128 µg/mL para *S. aureus*; 512 µg/mL para *P. aeruginosa*; e 512 µg/mL para *E. coli*. A discrepância entre esses valores e os do presente estudo (512 µg/mL *S. aureus* ; 1.024 µg/mL *P. aeruginosa* e *E. coli*), deve-se a diferença de composição química entre os dois óleos utilizados nos diferentes estudos, no entanto, observa-se valores de CIM iguais para as bactérias gram-negativas em ambas as pesquisas e uma maior sensibilidade para a cepa *S. aureus*, vale salientar que ambos os óleos foram extraídos de plantas cultivadas na região Nordeste brasileira. Barreto *et al.* (2021), avaliou uma solução contendo 4% de OELS em lauril sulfato de sódio no meio aquoso, testada contra o crescimento bacteriano de *P. aeruginosa* e *S. aureus*, utilizando a mesma técnica de microdiluição, onde as CIMs encontradas foram de 78.12 µg/mL para cepas de *S. aureus*, e 625 µg/mL para *P. aeruginosa*. O OELS no estudo de Barreto *et al.* (2021), também possuía como composto majoritário o timol e confirma a maior sensibilidade de bactérias gram-positivas como *S. aureus* em comparação com a atividade antimicrobiana mais moderada contra bactéria gram-negativas como *P. aeruginosa*.

Outros estudos demonstram que os componentes majoritários isolados não exercem o mesmo efeito antimicrobiano do que a miscelânea de compostos que constituem um extrato ou óleo essencial de determinada espécie de planta, indicando que há sinergismo de ação quando todos esses compostos estão agindo juntos (MEDEIROS BARRETO *et al.*, 2014).

5.3.2 Concentração inibitória fracionada CIF (*checkerboard*)

O teste denominado de *checkerboard* possui o objetivo primordial de avaliar o efeito obtido entre a interação de duas substâncias. O intuito é de encontrar associações entre componentes, com propriedades antimicrobianas, sinérgicas, utilizando como base o índice de concentração inibitória fracionária (CIF) (LANGEVELD; VELDHUIZEN; BURT, 2014).

Na Tabela 3, observa-se as concentrações em associações sinérgicas, as associações foram selecionadas após terem sido calculadas as CIFs ($CIF \leq 0,5122$).

Tabela 3.- Atividades antimicrobianas do OELS, ampicilina e ciprofloxacino, reduzidas após o teste de *checkerboard*, valores utilizados para calcular as CIFs e classificá-las como sinérgicas.

Microrganismos	OELS x Amp	OELS x Cipro
	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$
<i>Staphylococcus aureus</i>	256/128	128/0,152
<i>Escherichia coli</i>	32/256	128/0,0078
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	128/625	128/0,250

Experimentos realizados em triplicata.

Os resultados apresentados demonstraram que o OELS potencializou a ação dos antimicrobianos ampicilina e ciprofloxacino, uma comprovação deste efeito pode ser evidenciada pela redução nas concentrações sinérgicas quando comparadas às da CIMs. Quando testada frente a *S. aureus* a concentração de ampicilina reduziu quatro vezes em relação a CIM (512-128 $\mu\text{g/mL}$), quando esse antimicrobiano foi combinado com OELS, sendo a mesma porcentagem de redução para o antibiótico ciprofloxacino (0,610-0,152 $\mu\text{g/mL}$). Para *E. coli* a concentração de ampicilina reduziu duas vezes quando em associação (512-256 $\mu\text{g/mL}$), a redução ocorrida para o antibiótico ciprofloxacino (0,0313-0,0078 $\mu\text{g/mL}$) foi de quatro vezes para a mesma bactéria. Em relação à cepa *P. aeruginosa* tanto a concentração de ampicilina (2.500-625 $\mu\text{g/mL}$) quanto a de ciprofloxacino (1-0,250 $\mu\text{g/mL}$) reduziram quatro vezes quando associadas ao OELS.

A redução na concentração de antimicrobiano, necessária para inibir o crescimento bacteriano, demonstra que houve potencialização do mesmo e aumento na efetividade dos compostos em associação, uma vez que as concentrações de OELS também foram reduzidas. Classes de metabólitos secundários frequentemente presentes em extratos e óleos essenciais de produtos naturais também foram relatados como capazes de modificar a atividade antibiótica de fármacos (DE ALENCAR *et al.*, 2017), exemplos são os terpenos (NICOLSON; EVANS; O'TOOLE, 1999), taninos, alcalóides (MATIAS *et al.*, 2011) e flavonóides (SATO *et al.*, 2004),

que corroboram com a teoria de que estes compostos são os responsáveis pelo efeito antibacteriano dos óleos extraídos de plantas.

Uma das teorias para os óleos essenciais exercerem esse efeito sobre os fármacos antimicrobianos é sua hidrofobicidade, que facilita o transporte através da membrana plasmática da bactéria, além de componentes como o timol e carvacrol que podem atuar como permeabilizadores de membrana aumentando a captação das moléculas (HELANDER; LATVA-KALA; LOUNATMAA, 1998).

Mais recentemente, Felix e Silva *et al.* (2021) testou óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Cymbopogon citratus*, chamada comumente de capim-limão, em associação com florfenicol, um antimicrobiano sintético com atividade bacteriostática utilizado para infecções em bovinos e suínos, com o intuito de inibir a formação de biofilme pela bactéria *Aeromonas hydrophila*. O composto majoritário do OELS foi o carvacrol, sendo a atividade antibacteriana de OELS verificada pela concentração inibitória mínima, e a atividade sinérgica do OE com o florfenicol foi realizada através da técnica do tabuleiro de damas (*checkerboard*). Como um de seus resultados, o experimento demonstrou que o OELS quando em associação com o florfenicol apresentou efeito sinérgico, apresentando uma redução na concentração destes compostos de até 4 e 2 vezes, respectivamente, em testes de inibição de crescimento bacteriano. Ademais, esta associação promoveu a capacidade de interferir na formação do biofilme consolidado.

Medeiros Barreto *et al.* (2014) também obteve a potencialização dos antimicrobianos através da associação do óleo essencial obtido da espécie *Lippia origanoides* HBK contra *S. aureus* MRSA, no qual se observou a redução da CIM de pelo menos dez vezes para neomicina e de pelo menos cinco vezes para amicacina, compostos monoterpênóides como carvacrol e timol também foram associados a este efeito beneficiado.

Veras *et al.* (2013) testou OELS em associação com o antibiótico gentamicina contra *P. aeruginosa* e reduziu em 25% a concentração do mesmo, a mesma porcentagem foi obtida quando houve a associação entre o óleo e neomicina frente a *S. aureus* e OELS com penicilina G contra *Streptococcus mutans*.

Oliveira *et al.* (2006) observou o efeito de óleos essenciais de diferentes plantas em associação com antimicrobianos utilizados na clínica, os resultados para *Lippia sidoides* mostrou efeitos sinérgicos e conseqüentemente potencialização dos medicamentos envolvidos. Neste estudo ampicilina, cefalotina e cloranfenicol foram

potencializados contra algumas cepas bacterianas, destacando-se o efeito do óleo para ampicilina corroborando com o sinergismo encontrado entre OELS e o mesmo antibiótico no presente estudo.

Veras *et al.* (2017) obteve o excelente resultado com EOLS associado a gentamicina com redução de 25% da concentração de antibiótico contra *P. aeruginosa*, resultado semelhante foi obtido neste experimento.

Outra espécie da família Verbenaceae é a *Lippia microphylla* Cham. Coutinho *et al.* (2011) realizou um estudo onde a associação entre o óleo desta planta e fármacos utilizados em infecções bacterianas o que resultou em sinergismo, demonstrando um real interesse na comunidade científica, consolidando a propriedade antibacteriana desta família. O estudo realizado examinou o óleo essencial na forma de compostos voláteis, em relação aos seus efeitos na atividade antibiótica de gentamicina, tetraciclina e norfloxacin. As atividades da gentamicina e norfloxacin contra as cepas de *P. aeruginosa* e *S. aureus* aumentaram 47% e 225% respectivamente, os compostos voláteis do óleo não exerceram efeito no antibiótico tetraciclina. Observa-se mais uma vez um menor efeito antibacteriano frente às bactérias gram-negativas, sempre associado a membrana externa com cadeias polissacarídicas hidrofílicas que funciona como barreira aos compostos hidrofóbicos (TASSOU; NYCHAS, 1995).

Óleos essenciais extraídos de diversas plantas são reconhecidos devido as suas propriedades antibacterianas. El Alama *et al.* (2015), demonstrou o sinergismo entre o óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. e ciprofloxacino. Miladi *et al.* (2017), testou associações entre óleos essenciais (OE) de eugenol, carvacrol, timol, p-cimeno e g-terpineno e tetraciclina, observando um efeito sinérgico com uma taxa de redução variando de 2 a 8 vezes entre a MIC da tetraciclina isolada e a CIM da tetraciclina em associação com os óleos. Lambert *et al.* (2001) utilizou óleo essencial de orégano, timol e carvacrol e observou a modulação na suscetibilidade de *Salmonella Typhimurium* SGI a seis antimicrobianos (ampicilina, tetraciclina, penicilina, bacitracina, eritromicina e novobiocina) utilizadas para combater bactérias gram-negativas.

Portanto, os resultados obtidos através do experimento de *checkerboard*, associando OELS à ampicilina e ciprofloxacino, reduziu consideravelmente as CIMs, o que promove redução da concentração necessária para a inibição do crescimento bacteriano, reduzindo assim, possíveis efeitos colaterais e resistência bacteriana.

5.3.3 Determinação de biofilme bacteriano pela técnica de Cristal Violeta (CV)

As substâncias em estudo foram testadas quanto a capacidade de reduzir a formação de biofilme bacteriano. As bactérias quando estão em união, na forma de biofilme, geralmente são mais resistentes a antimicrobianos do que as bactérias planctônicas, e assim, compreende-se que muitas doenças infecciosas de alta gravidade podem ser associadas ao crescimento bacteriano como um biofilme, incluindo neste nicho as ISCs (HALL-STOODLEY; COSTERTON; STOODLEY, 2004; WELLS *et al.*, 2011). Por esta razão, novas estratégias são necessárias para resolução deste problema.

O método utilizado para determinação da formação de biofilme na presença das substâncias utilizadas foi a coloração com o agente cristal violeta, uma vez que ele é rápido e efetivo, determinando a biomassa bacteriana com a vantagem de não desorganizar a estrutura organizacional do biofilme (CHRISTENSEN *et al.*, 1985; PITTS *et al.*, 2003; XU *et al.*, 2016). A biomassa bacteriana formada no fundo em “U” da placa de poliestireno é colorida pelo cristal violeta e posteriormente determinada por método fotolorimétrico, sendo a intensidade da cor apresentada correspondente a quantidade de biofilme formado. O instrumento para detecção da cor se denomina espectrofotômetro que através da absorbância determina o quantitativo de biofilme formado, o equipamento seleciona o comprimento de onda equivalente à intensidade de luz detectada e transformada em corrente elétrica.

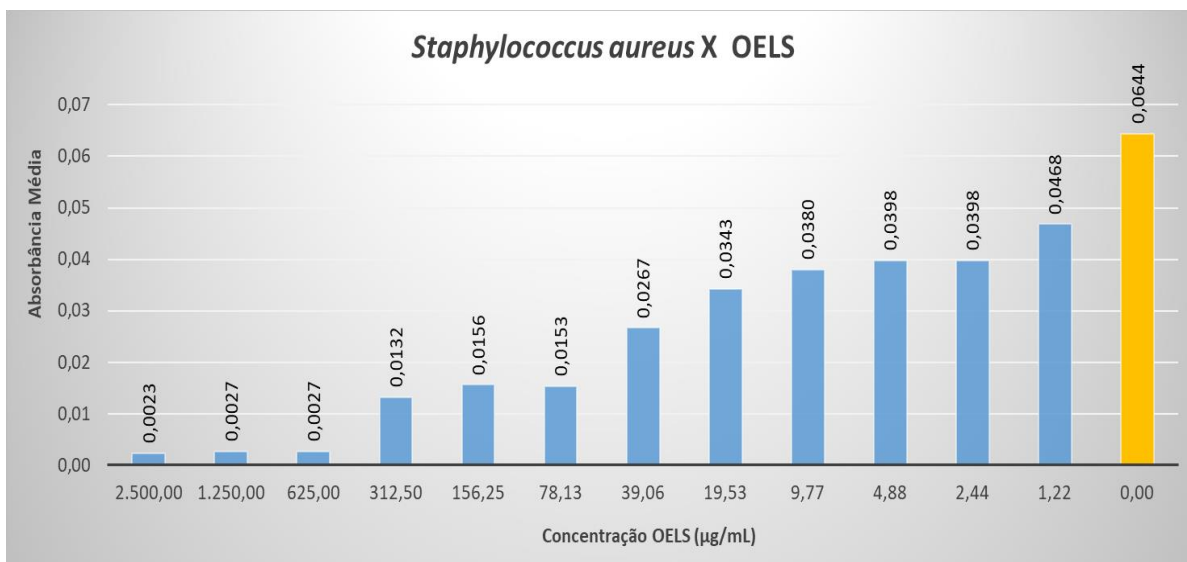
5.3.3.1 Determinação de biofilme bacteriano pela técnica de Cristal Violeta na presença das substâncias de maneira isolada.

O teste de biofilme foi realizado para as três substâncias em teste, e para este fim, foram preparadas soluções com concentrações um pouco mais elevadas do que as CIMs para observação do comportamento bacteriano em presença dos compostos.

Foi calculada uma média com os valores de absorbância obtidos pela leitura em espectrofotômetro, onde o desvio padrão para as médias calculadas ficaram entre $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$. As médias encontradas foram plotadas em forma de gráfico, onde no eixo X foram dispostas as concentrações das substâncias de forma decrescente, e no eixo Y foram dispostos os valores de absorbância na forma de média. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

No Gráfico 1 podemos observar o comportamento da formação de biofilme bacteriano por *S. aureus* na presença de OELS em concentrações decrescentes.

Gráfico 1 - Formação de biofilme pela cepa *S. aureus* em presença do OELS em concentrações decrescentes.



* Os valores acima das barras representam as médias de absorbância para cada concentração de OELS.

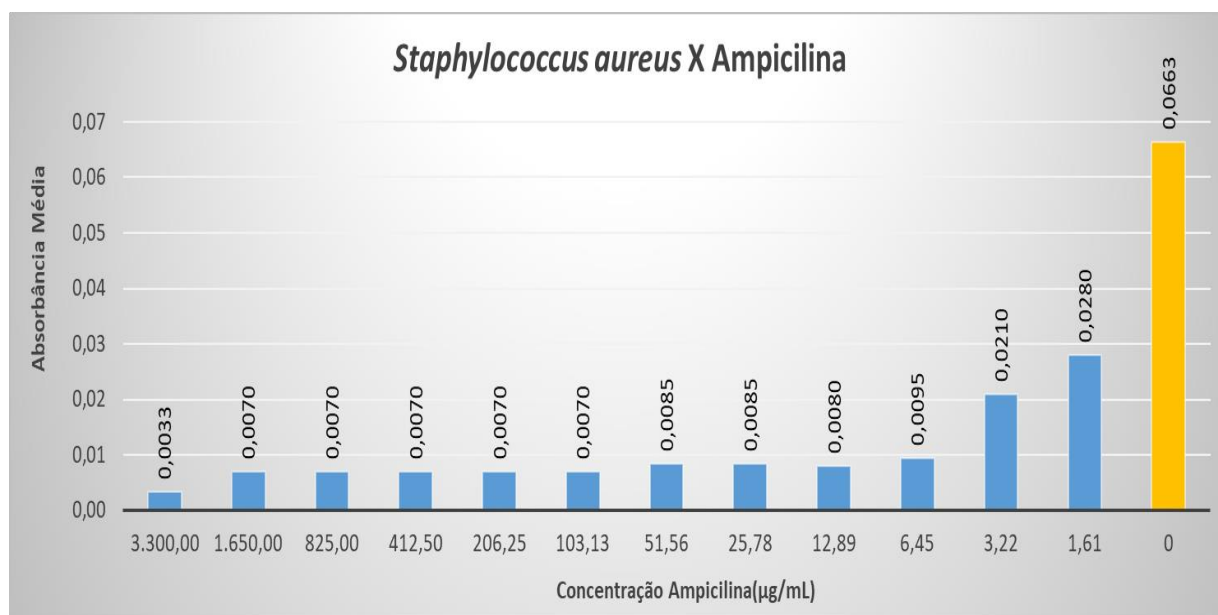
** Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$

*** Barra amarela representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

De acordo com o gráfico, a formação de biofilme de *S. aureus* demonstrou crescimento progressivo a medida que a concentração do óleo era reduzida. Observa-se uma reduzida formação de biofilme até a concentração de 625 µg/mL de OELS, a partir deste marco a formação de biofilme foi mais expressiva. Observando a formação de biofilme bacteriano entre 625 µg/mL e 312,50 µg/mL e comparando com a formação sem a interferência do OELS (barra amarela) é possível considerar que a formação de biofilme nestas concentrações é consideravelmente reduzida. A CIM do OELS para esta cepa foi de 512 µg/mL, observando que este valor está localizado entre a terceira e quarta barra do gráfico podemos afirmar que nesta concentração o biofilme formado também é reduzido satisfatoriamente.

A formação de biofilme para a mesma cepa na presença do antibiótico ampicilina pode ser vista no Gráfico 2.

Gráfico 2 - Formação de biofilme pela cepa *S. aureus* em presença do antimicrobiano ampicilina em concentrações decrescentes.



*Os valores acima das barras representam as médias de absorbância para cada concentração de OELS.

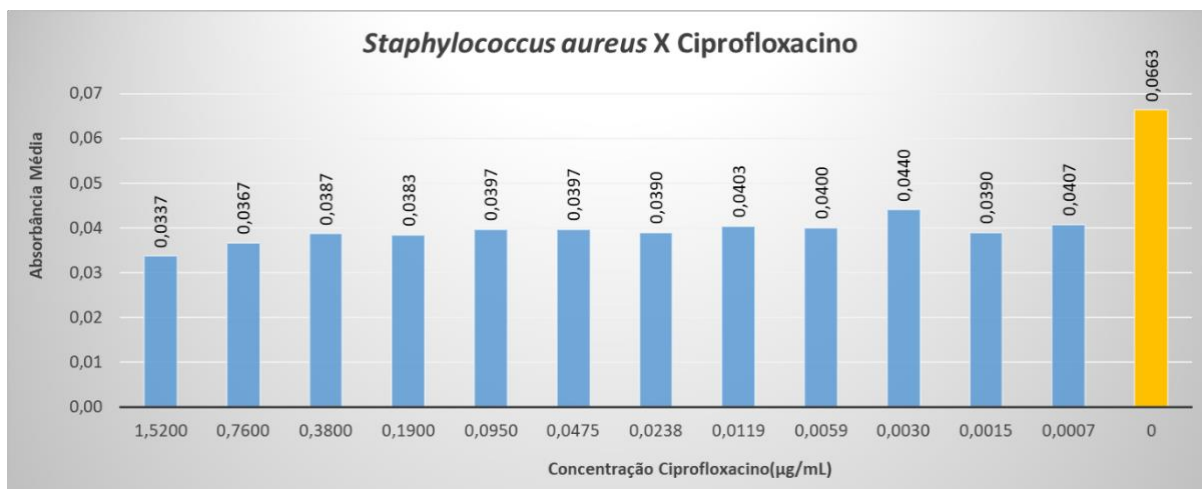
**Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$

***Barra amarela representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

A formação de biofilme por *S. aureus* na presença de ampicilina demonstrou um crescimento relativamente uniforme, aumentado sua formação quando na presença de 3,22 µg/mL do antibiótico, no entanto, o fármaco demonstrou ter eficácia nesta inibição quando observamos a formação do microrganismo livremente em meio de cultura. Considerando a CIM de 512 µg/mL, podemos afirmar que esta também possui efetividade.

Em relação ao antimicrobiano ciprofloxacino os resultados obtidos foram menos satisfatórios do que os anteriores conforme o Gráfico 3.

Gráfico 3 - Formação de biofilme pela cepa *S. aureus* em presença do antimicrobiano ciprofloxacino em concentrações decrescentes.



* Os valores acima das barras representam as médias de absorbância para cada concentração de OELS.

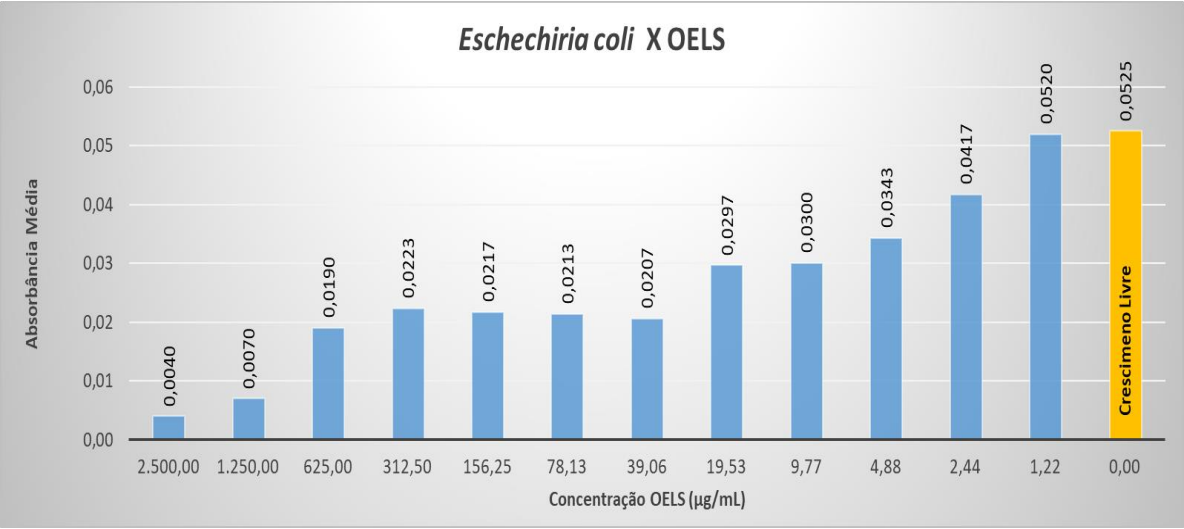
** Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$

*** Barra amarela representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

Considerando a CIM de $1\mu\text{g/mL}$ e observando os valores obtidos podemos avaliar que mesmo com redução de formação de biofilme inferior ao OELS e ampicilina, o ciprofloxacino foi efetivo em reduzir a formação bacteriana quando comparados os valores do gráfico com o valor obtido para o crescimento isento de antibiótico.

Para *E.coli* os resultados obtidos podem ser vistos nos Gráficos 4, 5 e 6. O OELS foi efetivo em reduzir a formação de biofilme e considerando a CIM ($1024\mu\text{g/mL}$), pode-se afirmar que este composto reduz consideravelmente a biomassa bacteriana quando comparada com o crescimento em meio de cultura. O mesmo pode ser considerado para crescimento na presença de ampicilina (CIM $512\mu\text{g/mL}$) e ciprofloxacino (CIM $0,0313\mu\text{g/mL}$).

Gráfico 4 - Formação de biofilme pela cepa *E. coli* em presença de OELS em concentrações decrescentes.

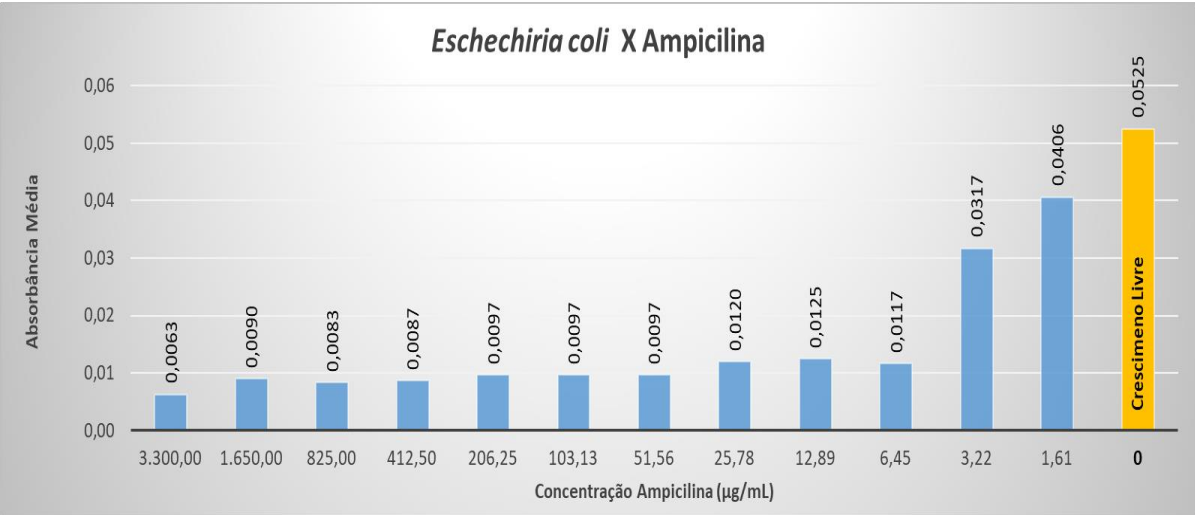


* Os valores acima das barras representam as médias de absorbância para cada concentração de OELS.

** Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$

*** Barra amarela representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

Gráfico 5 - Formação de biofilme pela cepa *E. coli* em presença do antimicrobiano ampicilina em concentrações decrescentes.

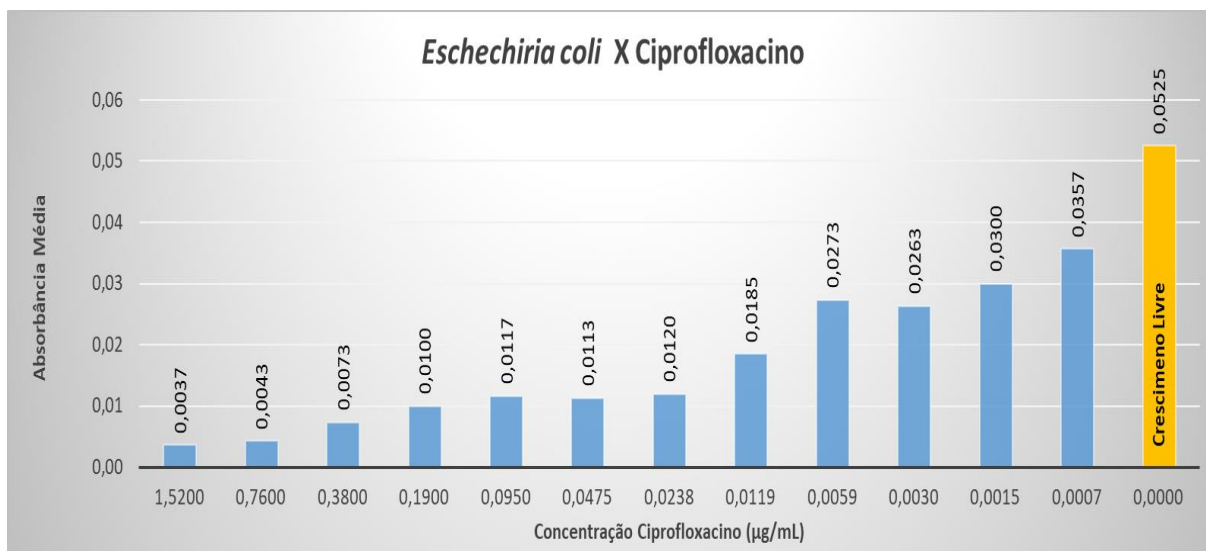


* Os valores acima das barras representam as médias de absorbância para cada concentração de OELS.

** Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$

*** Barra amarela representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

Gráfico 6 - Formação de biofilme pela cepa *E. coli* em presença do antimicrobiano ciprofloxacino em concentrações decrescentes.



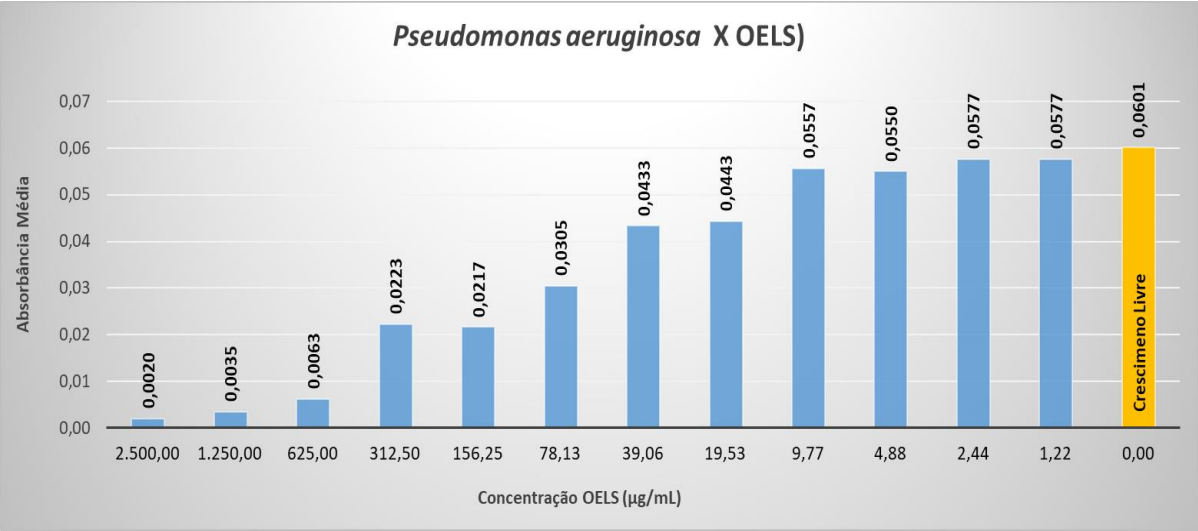
* Os valores acima das barras representam as médias de absorbância para cada concentração de OELS.

** Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$

*** Barra amarela representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

Os resultados de formação de biofilme para *P. aeruginosa* podem ser observados nos Gráficos 7, 8 e 9. O OELS foi efetivo em reduzir a formação de biofilme e considerando a CIM (2.500 µg/mL), pode-se afirmar que este composto reduz consideravelmente a biomassa bacteriana mesmo quando a CIM é reduzida pela metade. Para ampicilina a redução foi quase que uniforme, mas com excelente eficiência principalmente considerando a CIM (1.024 µg/mL). Quando o antibiótico foi ciprofloxacino o que se observou foi uma redução de formação de biofilme inferior aos outros compostos, principalmente considerando a CIM (1 µg/mL).

Gráfico 7 - Formação de biofilme pela cepa *P. aeruginosa* em presença de OELS em concentrações decrescentes.

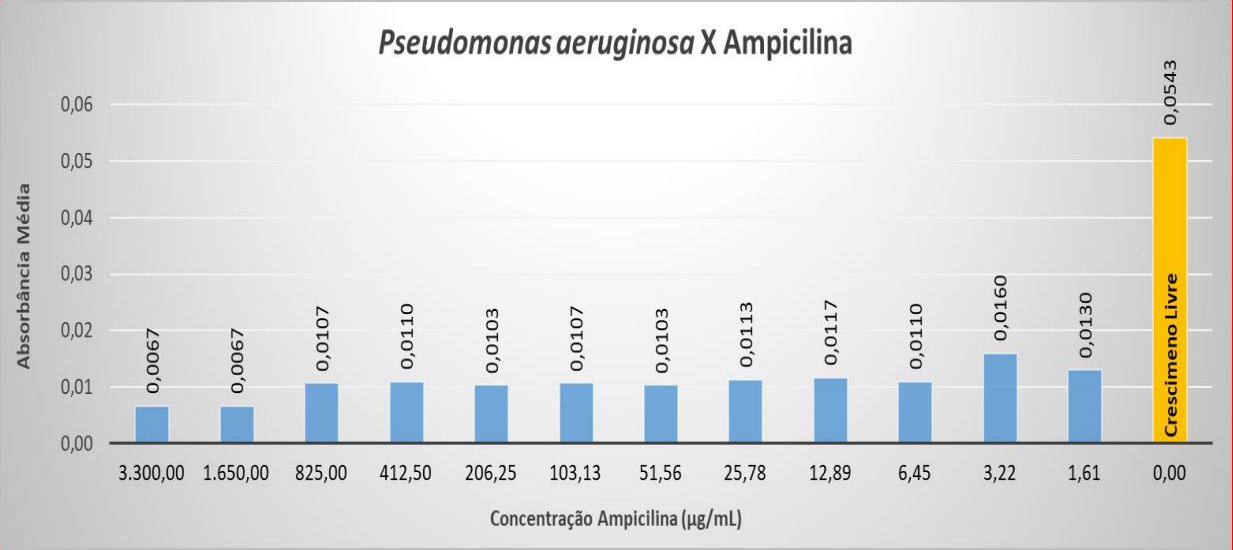


*Os valores acima das barras representam as médias de absorbância para cada concentração de OELS.

** Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$

*** Barra amarela representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

Gráfico 8 - Formação de biofilme pela cepa *P. aeruginosa* em presença do antimicrobiano ampicilina em concentrações decrescentes.

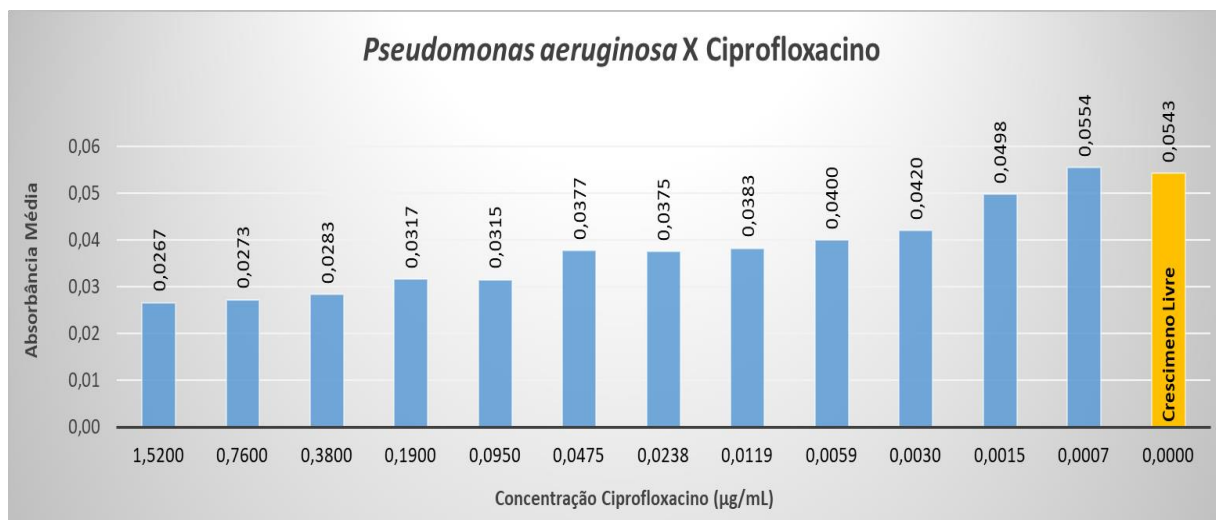


* Os valores acima das barras representam as médias de absorbância para cada concentração de OELS.

** Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$

*** Barra amarela representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

Gráfico 9 - Formação de biofilme pela cepa *P. aeruginosa* em presença do antimicrobiano ciprofloxacino em concentrações decrescentes.



* Os valores acima das barras representam as médias de absorbância para cada concentração de OELS.

** Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$

*** Barra amarela representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

Lippia sidoides Cham. possui o potencial de reduzir formação de biofilme, Veras *et al.* (2014) testou o óleo da planta que continha 84,9% de timol contra *Enterococcus faecalis* e obteve redução de UFC em biofilmes causados pela bactéria *in vitro*, o mesmo experimento testou timol isoladamente e concluiu que não houve diferença entre OELS e timol.

Vázquez-Sánchez *et al.* (2018) trabalhou com óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *Thymus vulgaris* e *Pimenta pseudochariophyllus* e todos mostraram eficácia contra células planctônicas de *S. aureus* e biofilmes de 24 horas formados em poliestireno e aço inoxidável em condições relacionadas a alimentos. Estes óleos continham timol em concentrações elevadas, assim como outros compostos antimicrobianos, os autores frisaram a ação do óleo de *L. sidoides*, que foi particularmente eficaz contra *S. aureus*.

Cáceres *et al.* (2020) trabalhando com óleo essencial de *Lippia origanoides*, observou alto efeito inibitório na formação de biofilme, cerca de 70% de inibição para a cepa *E.coli*, o mesmo efeito não foi observado na taxa de crescimento das bactérias planctônicas.

Os efeitos dos óleos essenciais de manjeriço (*Ocimum basilicum*) e sálvia (*Salvia officinalis*) em formação e resistência de biofilme de isolados clínicos de

Pseudomonas aeruginosa foram avaliados por Pejčić *et al.* (2020), onde os óleos inibiram a formação de biofilme em até 99,9%.

Os presentes resultados de crescimento de biofilme na presença de OELS, demonstram que óleos essenciais com propriedades antibiofilme podem ser uma alternativa inestimável e segura contra o surgimento de resistência bacteriana. Vários estudos atribuem a propriedade de inibir a formação de biofilme nos primeiros estágios aos monoterpenoides como o timol (UPADHYAY *et al.*, 2013)

5.3.3.2 Determinação de biofilme bacteriano pela técnica de Cristal Violeta com OELS associado aos antimicrobianos.

Em um segundo momento foi avaliada a formação de biofilme bacteriano na presença de OELS associado aos antimicrobianos ampicilina e ciprofloxacino. O objetivo foi o de verificar se o OELS possui a capacidade de reduzir as concentrações dos fármacos, potencializando-o, conservando a propriedade de inibição de formar biofilme.

Nas tabelas 4 e 5 estão dispostos os valores de concentração de OELS associados aos respectivos valores de ampicilina e ciprofloxacino.

Tabela 4 - Concentrações de OELS/ampicilina µg/mL na placa teste de formação de biofilme pela cepa *S. aureus*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
OELS µg/mL	4.096	2.048	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2
AMP µg/mL	2.048	1.024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1

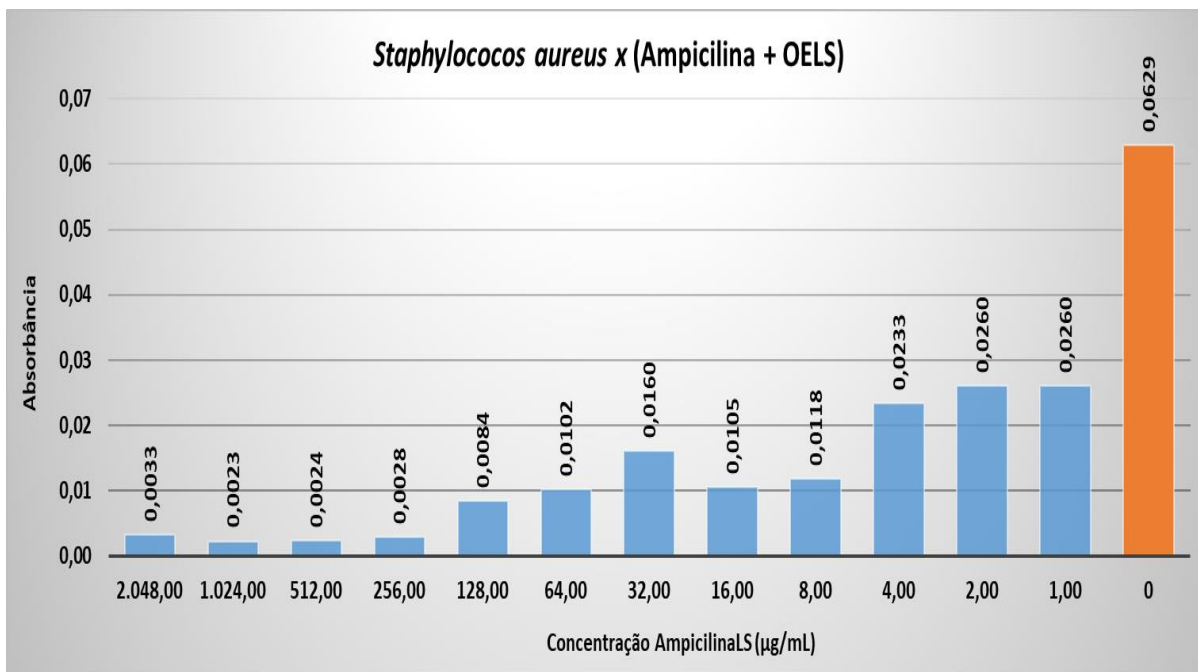
Tabela 5 - Concentrações de OELS/ciprofloxacino µg/mL na placa teste de formação de biofilme pela cepa *S. aureus*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
OELS µg/mL	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25
CIP µg/mL	0,608	0,304	0,152	0,076	0,038	0,019	0,0095	0,0048	0,0024	0,0012	0,0006	0,0003

Nos gráficos 10, 11, 12, 13, 14 e 15 estão representados o crescimento de biofilme na presença dos valores associados. Observa-se a inibição da formação de biofilme na presença das substâncias em estudo quando comparamos com o crescimento bacteriano livre em meio de cultura.

As concentrações de OELS/ampicilina (256/128 µg/mL) para a cepa *S. aureus*, apresentaram um efeito sinérgico evidente e com potencial para uso em fios de sutura (Gráfico 10). O mesmo pode ser observado para o antibiótico ciprofloxacino no gráfico 11, quando as concentrações sinérgicas OELS/ciprofloxacino (128/0,152 µg/mL), reduziram drasticamente a capacidade de formação de biofilme.

Gráfico 10 - Gráfico gerado pelas médias dos valores de absorbância no experimento de crescimento de biofilme bacteriano (*S. aureus*) em presença de OELS/ampicilina.

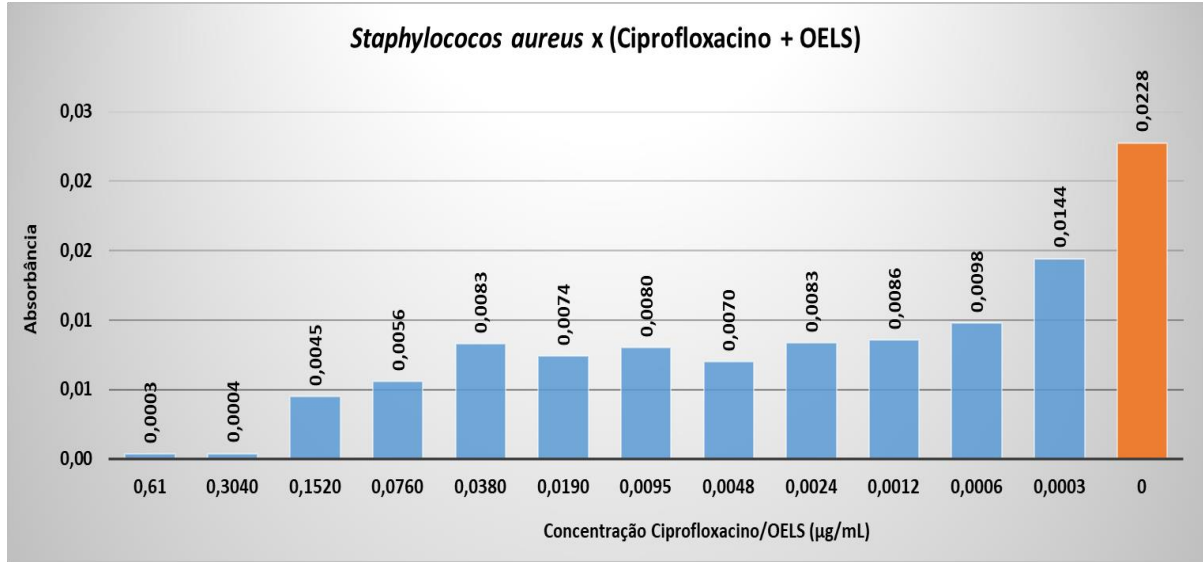


*Os valores acima das barras representam as médias de absorbância para cada

**Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$

***Barra laranja representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

Gráfico 11 - Gráfico gerado pelas médias dos valores de absorbância no experimento de crescimento de biofilme bacteriano (*S. aureus*) em presença de OELS/ciprofloxacino.



* Os valores acima das barras representam as médias de absorbância.
** Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$
*** Barra laranja representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

Nas tabelas 6 e 7 estão dispostos os valores de concentração de OELS associados aos respectivos valores de ampicilina e ciprofloxacino.

Tabela 6 - Concentrações de OELS/ampicilina µg/mL na placa teste de formação de biofilme frente a cepa *E. coli*.

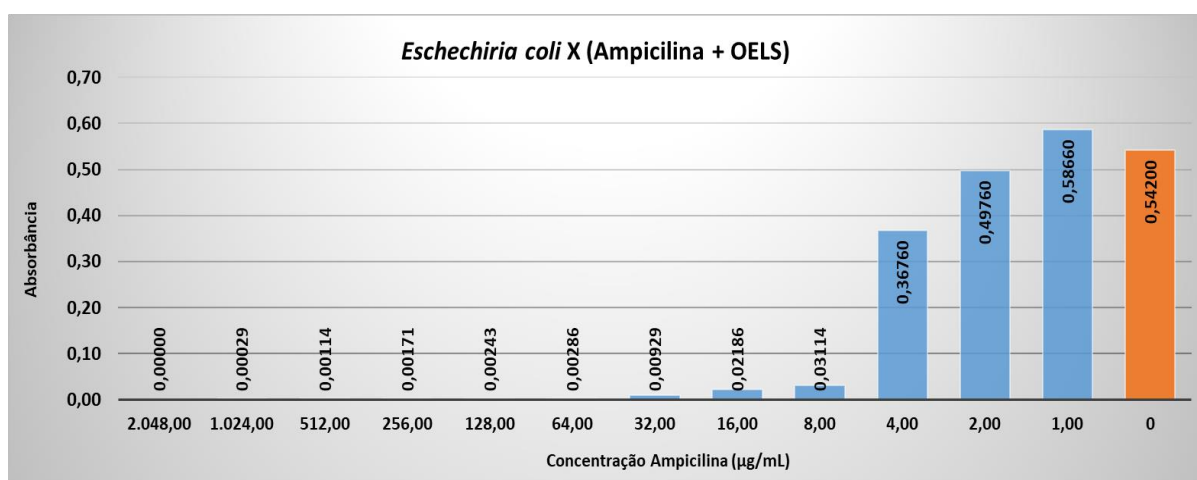
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
OELS µg/mL	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125
AMP µg/mL	2.048	1.024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1

Tabela 7 - Concentrações de OELS/ciprofloxacino µg/mL na placa teste de formação de biofilme pela cepa *E. coli*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
OELS µg/mL	4.096	2.048	1.024	512	256	128	64	32	16	8	4	2
CIP µg/mL	0,2496	0,1248	0,0624	0,0312	0,0156	0,0078	0,0039	0,0020	0,0010	0,0005	0,0002	0,0001

Para *E. coli* o crescimento de biofilme na concentração dita sinérgica, para OELS/ampicilina (32/256 µg/mL) praticamente não ocorreu. Observa-se uma certa incapacidade de impedir a formação ao atingir a concentração OELS/amp (0,5/4 µg/mL). No caso da mesma cepa crescendo em presença de OELS/cip a concentração sinérgica (128/0,0078 µg/mL) também demonstrou ser capaz de impedir a formação de biofilme com excelente desempenho, a partir desta concentração a formação cresceu vertiginosamente.

Gráfico 12 - Gráfico gerado pelas médias dos valores de absorbância no experimento de crescimento de biofilme bacteriano (*E. coli*) em presença de OELS/ampicilina.

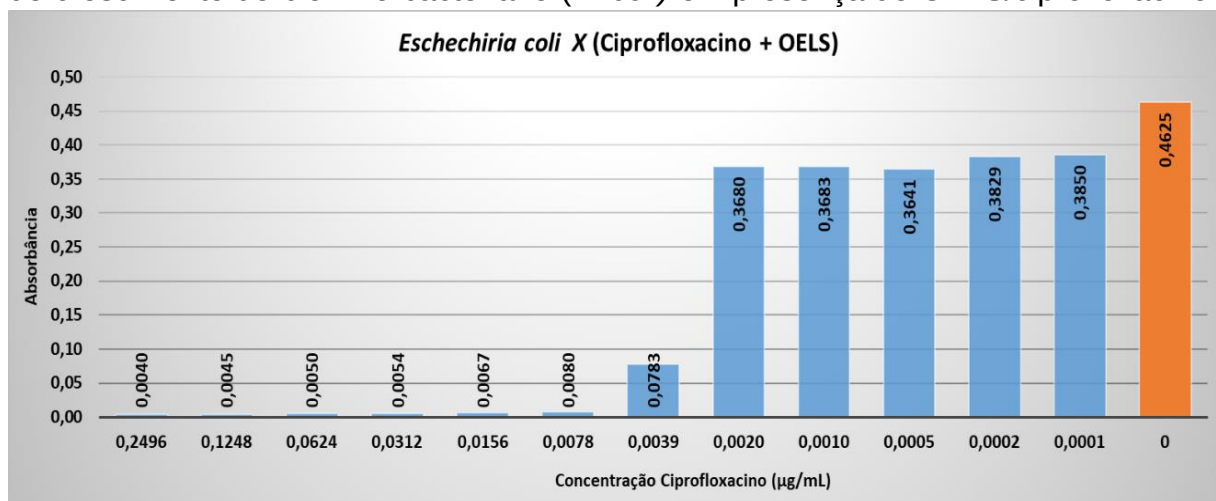


* Os valores acima das barras representam as médias de absorbância.

**Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$

*** Barra laranja representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

Gráfico 13 - Gráfico gerado pelas médias dos valores de absorbância no experimento de crescimento de biofilme bacteriano (*E. coli*) em presença de OELS/ciprofloxacino.



* Os valores acima das barras representam as médias de absorbância.

** Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$

*** Barra laranja representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

P. aeruginosa apresentou concentrações ditas sinérgicas mais elevadas em relação as outras cepas, demonstrando a patogenicidade desta cepa. As tabelas 8 e 9 mostram os valores das associações no experimento de formação de biofilme para esta cepa.

Tabela 8 - Concentrações de OELS/ampicilina µg/mL na placa teste de formação de biofilme pela cepa *P. aeruginosa*.

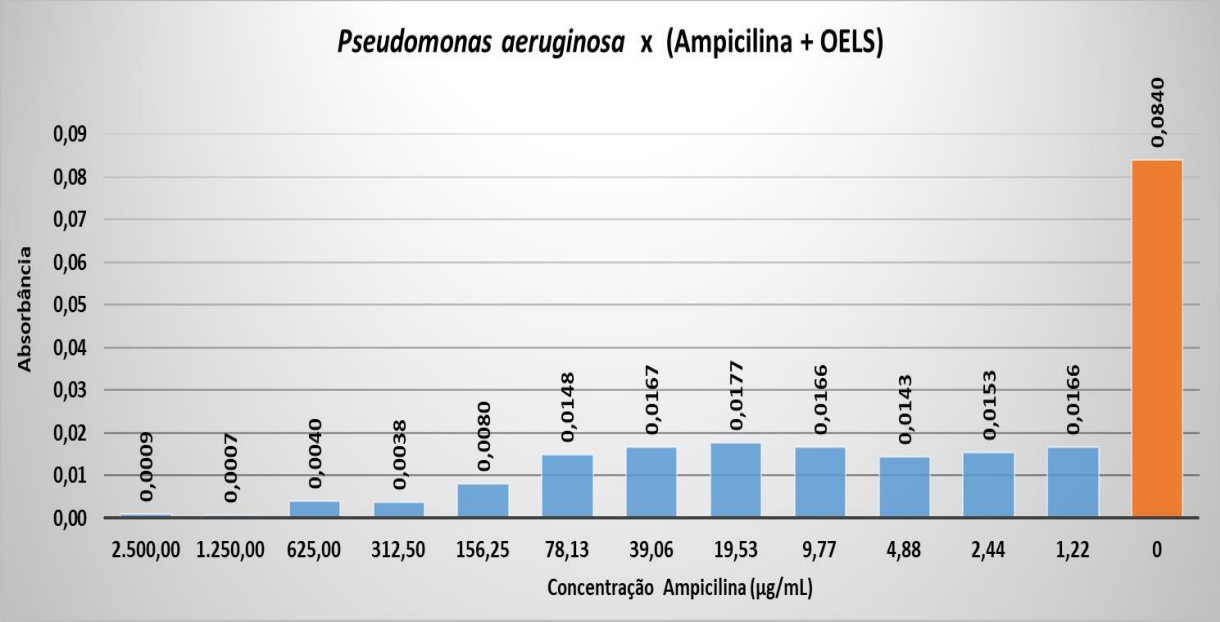
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
OELS µg/mL	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25
AMP µg/mL	2.500	1.250	625	312,5	156,25	78,13	39,06	19,53	9,77	4,88	2,44	1,22

Tabela 9 - Concentrações de OELS/ciprofloxacino µg/mL na placa teste de formação de biofilme pela cepa *P. aeruginosa*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
OELS µg/mL	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125
AMP µg/mL	0,500	0,250	0,125	0,062	0,0313	0,0156	0,0078	0,0039	0,0020	0,0010	0,0005	0,0002

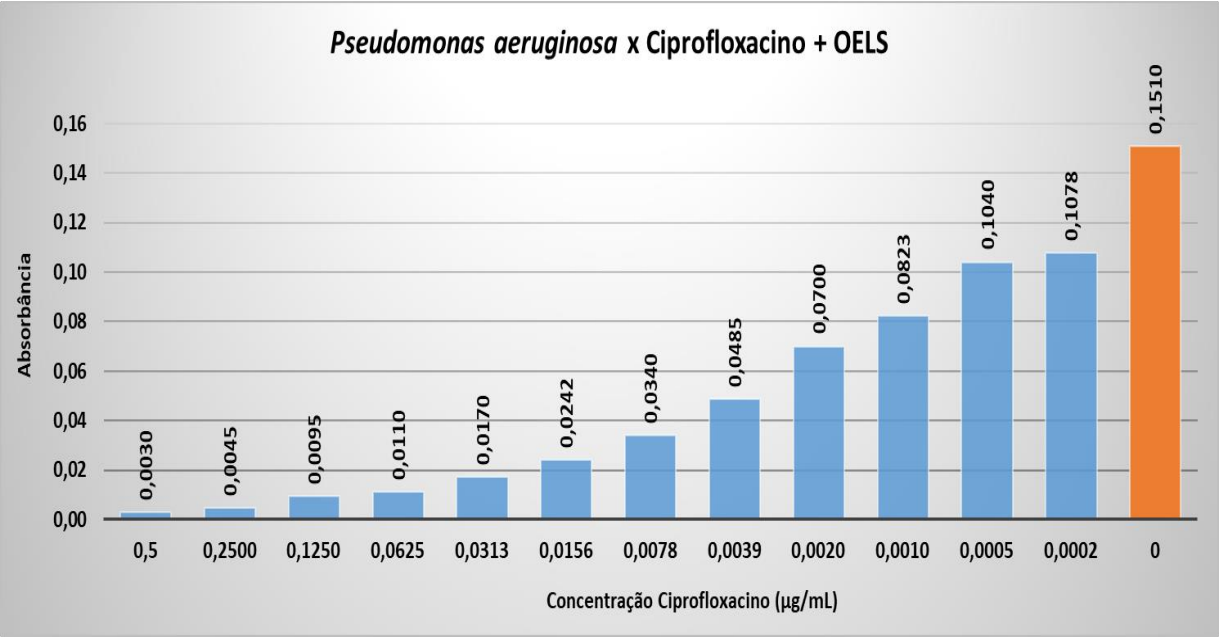
Conforme observado no gráfico 14, a concentração sinérgica OELS/amp (128/625 µg/mL) demonstrou eficácia no impedimento de formação de biofilme. No caso de OELS/ciprofloxacino, gráfico 15, a concentração sinérgica (128/0,250 µg/mL) também demonstrou eficácia, a partir deste marco o crescimento se tornou crescente.

Gráfico 14 – Gráfico gerado pelas médias dos valores de absorbância no experimento de crescimento de biofilme bacteriano (*P. aeruginosa*) em presença de OELS/ampicilina.



* Os valores acima das barras representam as médias de absorbância.
** Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$
*** Barra laranja representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

Gráfico 15 - Gráfico gerado pelas médias dos valores de absorbância no experimento de crescimento de biofilme bacteriano (*P. aeruginosa*) em presença de OELS/ciprofloxacino.



* Os valores acima das barras representam as médias de absorbância.
** Desvio padrão $\pm 0,01$ e $\pm 0,035$
*** Barra laranja representa o crescimento bacteriano em meio de cultura.

Nos últimos anos não houve grandes avanços na descoberta de novos agentes que combatam o crescimento bacteriano, e uma estratégia amplamente explorada é o uso de compostos não utilizados clinicamente como antimicrobianos para potencializar a atividade destes agentes e melhorar sua eficácia. As interações sinérgicas entre OE e seus componentes com agentes antimicrobianos têm restabelecido a sensibilização bacteriana aos medicamentos utilizados na atualidade no combate a bactérias ditas resistentes. Ampicilina seria um exemplo, pois, apesar de seu amplo espectro perdeu sua eficácia frente às principais espécies bacterianas.

A falta de consistência nos métodos e critérios de interpretação, torna difícil extrair conclusões sobre a eficácia de combinações sinérgicas estudadas. Os efeitos frequentemente não são explorados além da identificação preliminar de interações antibacterianas e o mecanismo de ação raramente é definido (OWEN; LAIRD, 2018).

Abdulhasan (2017) investigou a atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim e dos fármacos gentamicina, sulfametoxazol/trimetoprima e ciprofloxacina, usados para o tratamento de ITU, bem como determinou as melhores combinações entre o OE e antimicrobianos contra *E. coli* isoladas de amostras de urina de pacientes resistentes. As combinações entre o óleo e antimicrobianos ciprofloxacino e gentamicina demonstraram sinergismo, sendo os valores mais promissores para ciprofloxacino, com redução da CIM cerca de 16 vezes. O antimicrobiano potencializado teve a concentração necessária para inibir a formação de biofilme reduzida.

A ação antimicrobiana de compostos presentes em OE contra bactérias planctônicas e formadoras de biofilme, como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, constitui-se através dos mecanismos das diferentes moléculas que o compõem. Carvacrol, cinamaldeído e timol exibem as maiores atividades antimicrobianas *in vitro* contra *E. coli* e *S. aureus*. A adição e interação desses compostos impede a formação do biofilme de *S. aureus* eliminando parcialmente os biofilmes pré-formados, indicando que a mistura de componentes do óleo essencial age em sinergia conferindo a atividade antibacteriana (GARCÍA-SALINAS *et al.*, 2018).

5.3.4 Determinação da formação de biofilme em fio de sutura revestido

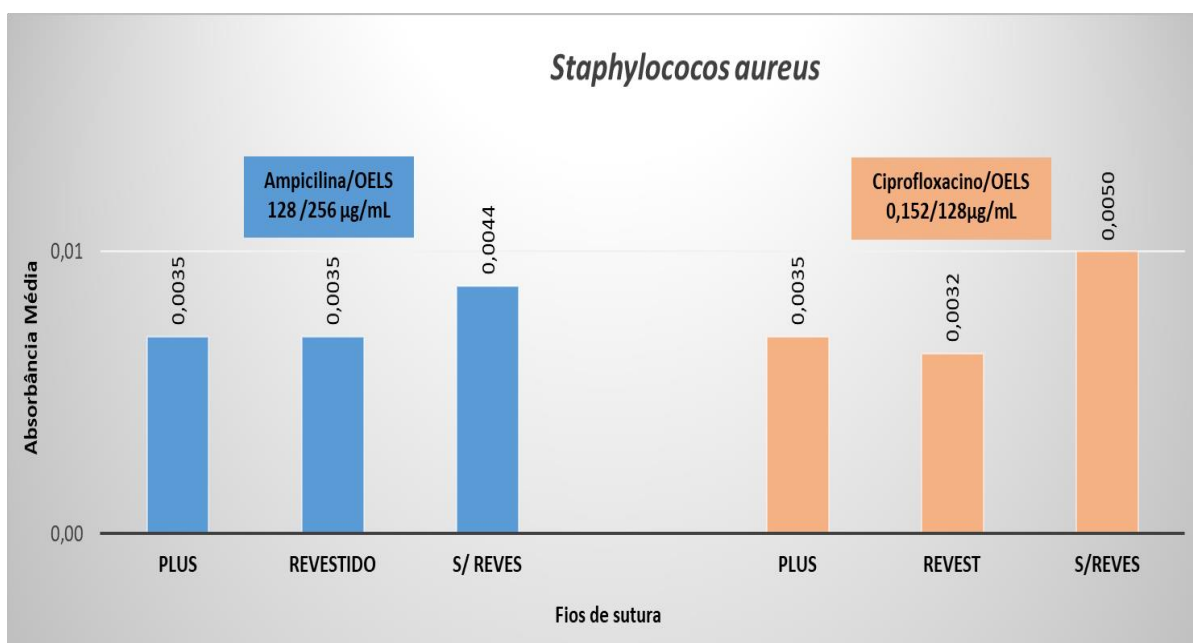
Para elaboração das soluções antimicrobianas utilizadas para o revestimento dos fios de sutura, foram utilizadas as concentrações sinérgicas estabelecidas nos

testes de *checkerboard*, e que demonstraram eficácia de acordo com os testes de determinação de biofilme por CV.

Após o período de incubação dos fios revestidos, junto com as cepas bacterianas, foi determinado através da absorbância, o crescimento bacteriano que se desenvolveu em sua superfície. Em todos os experimentos o fio Vicryl Plus® contendo triclosano foi utilizado como controle positivo, uma vez que sua ação em reduzir a adesão bacteriana foi extensamente comprovada.

Os dados obtidos através desta análise podem ser examinados através dos gráficos 16, 17 e 18.

Gráfico 16 - Gráfico representando o crescimento bacteriano de *S. aureus* na superfície de fio de poliglactina revestido com OELS em associação com antimicrobianos.

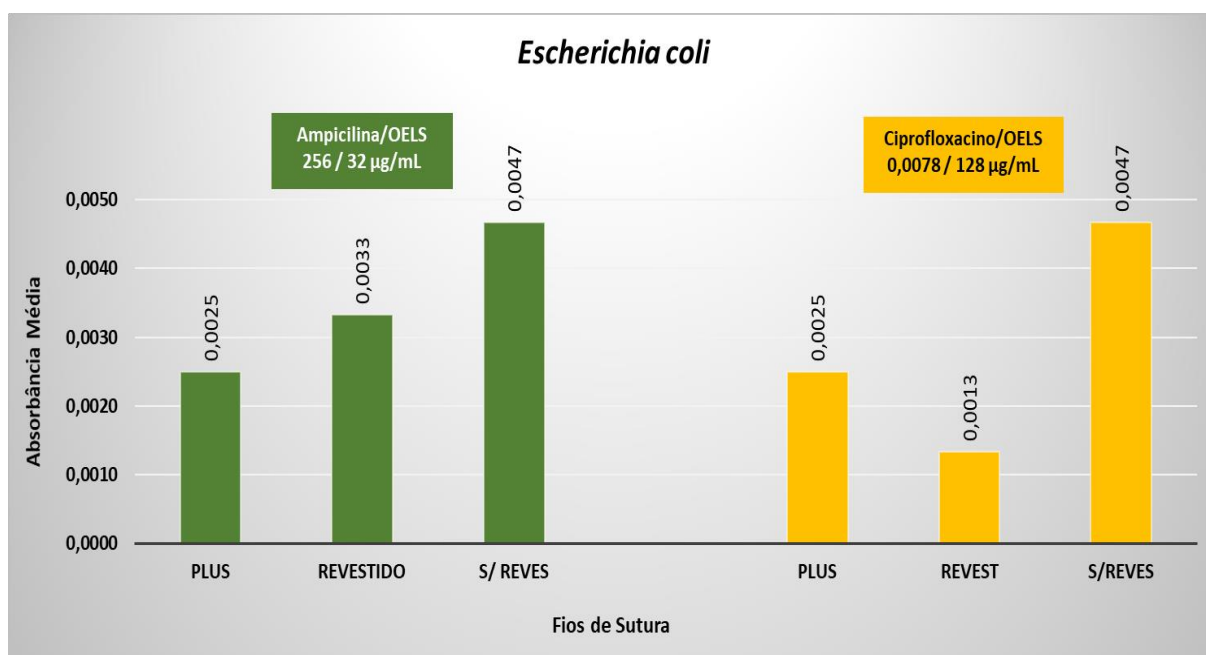


* Valores acima das barras representam as médias de absorbâncias obtidas.

** Vicryl Plus® controle positivo.

***S/REVES fio sem revestimento, controle negativo.

Gráfico 17 - Gráfico representando o crescimento bacteriano de *E. coli* na superfície de fio de poliglactina revestido com OELS em associação com antimicrobianos.

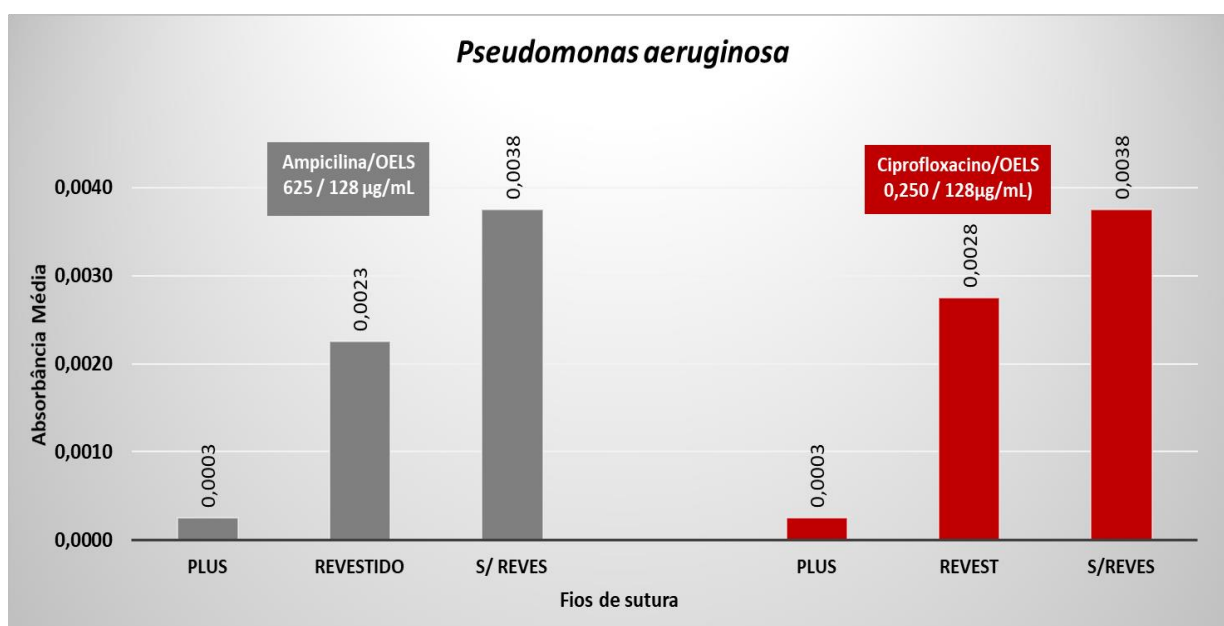


* Valores acima das barras representam as médias de absorbâncias obtidas.

** Vicryl Plus® controle positivo.

***S/REVES fio sem revestimento, controle negativo.

Gráfico 18 - Gráfico representando o crescimento bacteriano de *P. aeruginosa* na superfície de fio de poliglactina revestido com OELS em associação com antimicrobianos.



* Valores acima das barras representam as médias de absorbâncias obtidas.

** Vicryl Plus® controle positivo.

***S/REVES fio sem revestimento, controle negativo.

Os resultados para *S. aureus* indicaram que o revestimento para o fio, utilizando OELS/amp (128/256 µg/mL) e OELS/cip (128/0,152 µg/mL), apresentaram eficácia em relação à redução do crescimento e adesão bacteriana ao fio, semelhante ao Vicryl Plus®, sendo este o único representante atualmente no mercado de opção para fio de sutura com revestimento antibacteriano aprovado por autoridades sanitárias.

Para a cepa *E. coli*, os revestimentos nas concentrações OELS/amp (32/256 µg/mL) e OELS/cip (128/0,0078 µg/mL), obtiveram menor eficácia na redução do crescimento microbiano do que o revestimento do Vicryl Plus®, no entanto, os novos revestimentos reduziram a carga microbiana quando comparado ao crescimento apenas em meio de cultura, demonstrando ser uma alternativa viável para este fim. Quanto ao revestimento OELS/cip sua capacidade redutora foi altamente satisfatória, mas é necessário ter cautela em relação ao resultado, necessitando de maiores testes confirmatórios.

Vicryl Plus® apresentou capacidade de reduzir o crescimento bacteriano imensamente eficiente em relação à cepa *P. aeruginosa* em comparação ao crescimento bacteriano no fio sem nenhum revestimento. Ambos os revestimentos (OELS/amp e OELS/cip), apresentaram comportamento semelhante na inibição de crescimento, sendo o revestimento composto por ciprofloxacino mais eficiente, apesar de apresentar uma concentração menor de antimicrobiano do que o revestimento OELS/amp.

Modelos *in vitro* de biofilmes cultivados em fios de sutura cirúrgica podem esclarecer os fatores associados à resistência aos antimicrobianos. Não há dados definitivos sobre a incidência de ISC diretamente associada à sutura cirúrgica, mas é correto supor que uma proporção substancial dos índices de infecção, envolva materiais utilizados neste procedimento (MAHESH *et al.*, 2019; KATHJU *et al.*, 2009). Micrografias tiradas de suturas que foram incubadas com cepas bacterianas revelaram a formação de biofilmes robustos entre os fios trançados que constituem a estrutura do fio em sua totalidade (WELLS, *et al.*, 2011).

Os resultados de colonização bacteriana em fio de sutura de poliglactina demonstrou a formação de biofilme em uma superfície sem qualquer contribuição de fatores do hospedeiro, a estrutura trançada é correlacionada a uma maior colonização bacteriana dificultando a cicatrização em ISCs (EDLICH *et al.*, 2010).

Nas amostras de controle sem o uso das substâncias antimicrobianas (controle negativo) o crescimento ocorreu livremente, já os tratados com OELS, amp e cip

reduziram a carga microbiana. A falta de imagens desta colonização impede a descrição do comportamento do biofilme formado e, apesar das substâncias testadas impedirem uma colonização maior, conforme resultados expostos, é inevitável questionar a capacidade dos agentes antimicrobianos interagirem com seu alvo bacteriano.

Fios revestidos com substâncias antimicrobianas têm sido promissores no intuito de reduzir a colonização bacteriana, inibindo a formação de biofilme, reforçando a importância dos resultados apresentados. O estudo promovido por Sethi; Karde & Joshi (2016) avaliou a eficácia antibacteriana e a inibição de formação de biofilme oral em torno de suturas de poliglactina revestidas de clorexidina e triclosan em comparação com suturas não revestidas. Como resultado houve inibição substancial do biofilme em torno das suturas revestidas. Entre as suturas revestidas, as com clorexidina apresentaram melhores resultados em comparação com as revestidas com triclosan.

Walker *et al.* (2009) realizou um estudo usando clorexidina como revestimento antibacteriano em sutura contra *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA), *Staphylococcus epidermis* e *Escherichia coli*, utilizando Vicryl Plus® como controle positivo. Verificou-se que a sutura revestida com clorexidina e o Vicryl Plus® apresentavam zonas de inibição estatisticamente equivalentes quando testadas contra MRSA e *S. epidermidis*. Para os testes utilizando a cepa *E. coli*, a sutura revestida com clorexidina reduziu mais eficientemente a carga microbiana do que o revestimento do fio Vicryl Plus®.

Debbabi *et al.* (2017) sugeriu um novo processo de recobrimento para fio de poliamida envolvendo quitosana. O revestimento não alterou as propriedades mecânicas do fio e foi testado contra *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*, obtendo efeito antibacteriano propício.

Seguindo a tendência de utilizar compostos naturais como antimicrobianos, Sudha, Bhaarathi Dhurai e Ponthagam (2017), utilizaram o extrato da planta *Cynodon dactylon* incorporado a uma solução de quitosana, esse revestimento foi aplicado em fio de seda. A sutura revestida foi testada em relação à sua atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli*, a redução de crescimento bacteriano foi considerada satisfatória. Neste estudo a redução bacteriana foi mais pronunciada para *E. coli*, sendo um resultado controverso uma vez que esta cepa é Gram-negativa e normalmente apresentam maior resistência. No estudo presente um resultado

semelhante foi obtido, onde OELS/amp contra *E. coli* obteve redução bacteriana semelhante aos dois revestimentos contra *S. aureus*. OELS/cip contra *E. coli* obteve a melhor redução de crescimento microbiano, o que pode ser atribuído aos componentes terpenoides do OELS como o timol, carvacrol e linalol que possuem atividade contra *E. coli* e *S.aureus*, bastante significativas, enquanto *P. aeruginosa* mostra-se mais resistente a estes compostos (GALLEGOS-FLORES *et al.*, 2019).

Pode-se concluir, que a associação do OELS com os antimicrobianos foram eficientes em reduzir a colonização bacteriana em fibras trançadas de fio de poliglactina, estas concentrações também foram eficientes em inibir a formação de biofilme em placa de microtitulação de poliestireno, indicando que apesar do fio ser uma estrutura diferenciada com tramas entrelaçadas, houve uma boa penetração e fixação dos agentes testados, necessitando de mais investigações para observar o comportamento das colônias formadas.

6. CONCLUSÃO

A partir dos estudos para a preparação das soluções antimicrobianas destinadas para fio de poliglactina, utilizando óleo de *Lippia sidoides* Cham. ampicilina e ciprofloxacino, utilizando a metodologia de *checkerboard*, foram definidas concentrações sinérgicas entre os componentes. As capacidades em reduzir a formação de biofilme destas associações foram extremamente satisfatórias, possibilitando a elaboração de soluções antimicrobianas utilizadas para o revestimento em fio de sutura de poliglactina, utilizando um ácido graxo e álcool metanol como componentes da formulação. Os fios revestidos com óleo essencial e antimicrobianos demonstraram capacidade de redução de adesão bacteriana ao fio de sutura.

Fios de sutura com revestimento antibacteriano possuem potencial promissor na prevenção da colonização de patógenos em feridas de sítio cirúrgico, sendo tendência entre os pesquisadores desta área. Tendo em vista os resultados apresentados, pode-se afirmar que o OELS em associação com os antimicrobianos ampicilina e ciprofloxacino são candidatos a um possível revestimento para fios de sutura de poliglactina, uma vez que, atualmente o mercado conta com apenas um representante desta categoria. Além do que, os resultados apresentados oferecem uma abordagem alternativa e valiosa para melhorar a eficácia clínica dos fármacos antimicrobianos em estudo, e simultaneamente, reduzir a seleção de patógenos resistentes.

Mais testes devem ser realizados para confirmação destas finalidades.

REFERÊNCIAS

- ABDULHASAN, G. A. Synergism effect of rosemary essential oil and some antibiotic against *Escherichia coli* isolated from clinical samples. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 12, p. 39-42, 2017.
- ABHARI, R. E.; MARTINS, J. A.; MORRIS, H. L.; MOUTHUY, P. A.; CARR, A. Synthetic sutures: Clinical evaluation and future developments. **Journal of biomaterials applications**, v. 32, n. 3, p. 410-421, 2017.
- ABRAHAM, Edward P.; CHAIN, Ernst. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. **Nature**, v. 146, n. 3713, p. 837-837, 1940.
- ABREGO, M. O.; SABA, J. E. S.; HALLIBURTON, C.; TAYPE, D. R. E.; SANCINETO, C. F. Fasciitis and streptococcal toxic-shock syndrome: the importance of early diagnosis and surgical management. **Journal of Orthopaedic case reports**, v. 8, n. 5, p. 57, 2018.
- AELENEI, P.; MIRON, A.; TRIFAN, A.; BUJOR, A.; GILLE, E.; APROTOSOAIE, A. C. Essential oils and their components as modulators of antibiotic activity against gram-negative bacteria. **Medicines**, v. 3, n. 3, p. 19, 2016.
- AGBOKE, A. A.; ESIMONE, C. O. Antimicrobial evaluation of the interaction between methanol extract of the lichen, *Ramalina Farinacea* (Ramalinacea) and Ampicillin against clinical isolates of *Staphylococcus Aureus*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 4, p. 644-648, 2011.
- ALDRED, K. J.; KERNS, R. J.; OSHEROFF, N. Mechanism of quinolone action and resistance. **Biochemistry**, v. 53, n. 10, p. 1565-1574, 2014.
- ALEXANDER, J. W.; SOLOMKIN, J. S.; EDWARDS, M. J. Updated recommendations for control of surgical site infections. **Annals of surgery**, v. 253, n. 6, p. 1082-1093, 2011.
- ALHEDE, M.; BJARNSHOLT, T.; JENSEN, P. Ø.; PHIPPS, R. K.; MOSER, C.; CHRISTOPHERSEN, L.; CHRISTENSEN, L. D.; GENNIP M. V.; PARSEK, M.; HØIBY, N.; RASMUSSEN, T. B.; GIVSKOV, M. *Pseudomonas aeruginosa* recognizes and responds aggressively to the presence of polymorphonuclear leukocytes. **Microbiology**, v. 155, n. 11, p. 3500-3508, 2009.
- ALIGIANNIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINO, I. B. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4168-4170, 2001.
- ALLEGIANZI, B.; ZAYED, B.; BISCHOFF, P.; KUBILAY, N. Z.; DE JONGE, S.; DE VRIES, F.; GOMES, S. M.; GANS, S.; WALLERT, E. D.; WU, X.; ABBAS M.; ARCIOLA, C. R.; CAMPOCCIA, D.; MONTANARO, L. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 7, p. 397, 2018.

ALLISON, D. G.; RUIZ, B.; SANJOSE, C.; JASPE, A.; GILBERT, P. Extracellular products as mediators of the formation and detachment of *Pseudomonas fluorescens* biofilms. **FEMS microbiology letters**, v. 167, n. 2, p. 179-184, 1998.

ALMEIDA, Amanda Cosmo de. **Alguns cocristais de ciprofloxacino: síntese mecanoquímica, caracterização e ensaio de solubilidade**. 2019. 105 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2019.

AMINOV, R. History of antimicrobial drug discovery: Major classes and health impact. **Biochemical pharmacology**, v. 133, p. 4-19, 2017.

ARSLAN, H.; AZAP, Ö. K.; ERGÖNÜL, Ö.; TIMURKAYNAK, F. Risk factors for ciprofloxacin resistance among *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired urinary tract infections in Turkey. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 56, n. 5, p. 914-918, 2005.

ATKINSON, R. A.; JONES, A.; OUSEY, K.; STEPHENSON, J. Management and cost of surgical site infection in patients undergoing surgery for spinal metastasis. **Journal of Hospital Infection**, v. 95, n. 2, p. 148-153, 2017.

AYUKEKBONG, J. A.; NTEMGWA, M.; ATABE, A. N. The threat of antimicrobial resistance in developing countries: causes and control strategies. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 6, n. 1, p. 47, 2017.

BALL, A. P. Overview of clinical experience with ciprofloxacin. **European journal of clinical microbiology**, v. 5, n. 2, p. 214, 1986.

BARRETO, H. M.; SILVA-FILHO, E. C.; LIMA, E. D. O.; COUTINHO, H. D.; MORAIS-BRAGA, M. F.; TAVARES, C. C. A.; TINTINO, S. R.; REGO, J. V.; ABREU, A. P. L.; LUSTOSA M. C. G.; Oliveira, R. W. G.; CITÓ A. M. G. L.; LOPES, J. A. D. Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Industrial Crops and Products**, v. 59, p. 290-294, 2014.

BARRETO, J. O. *et al.* Microbiological evaluation of an experimental denture cleanser containing essential oil of *Lippia sidoides*. **Biofouling**, v. 37, n. 1, p. 117-130, 2021.

BASSOLÉ, I. H. N.; JULIANI, H. R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 3989-4006, 2012.

BATISTA, A.; DODOU, H.; RODRIGUES, M.; PEREIRA, P.; SALES, G.; MEDEIROS, S.; NOGUEIRA, N. Modulatory Effect of *Lippia alba* Essential Oil on the Activity of Clinically Used Antimicrobial Agents on *Salmonella typhi* and *Shigella dysenteriae* Biofilm. **Scientia Pharmaceutica**, v. 86, n. 4, p. 52, 2018.

BAYGAR, T.; SARAC, N.; UGUR, A.; KARACA, I. R. Antimicrobial characteristics and biocompatibility of the surgical sutures coated with biosynthesized silver nanoparticles. **Bioorganic chemistry**, v. 86, p. 254-258, 2019.

BERNARDO, W. L. D. C.; BORIOLO, M. F. G.; GONÇALVES, R. B.; HÖFLING, J. F. *Staphylococcus aureus* ampicillin-resistant from the odontological clinic environment. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 47, n. 1, p. 19-24, 2005.

BERDITSCH, M.; JÄGER T.; STREMPER, N.; SCHWARTZ, T.; OVERHAGE, J.; ULRICH, A. S. Synergistic effect of membrane active peptides polymyxin B and gradicidins on multidrug resistant strains and biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.59 n.9, 2015.

BEN ARFA, A.; COMBES, S.; PREZIOSI-BELLOY, L.; GONTARD, N.; CHALIER, P. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. **Letters in applied microbiology**, v. 43, n. 2, p. 149-154, 2006.

BHATTACHARYA, J. The Hospital Transcends into Hospital Medicine: A Brief Journey through Ancient, Medieval and Colonial India. **Indian Journal of History of Science**, v.52, n.1, p. 28-53, 2017

BISKRI, L.; MAZEL, D. Erythromycin esterase gene ere (A) is located in a functional gene cassette in an unusual class 2 integron. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 47, n. 10, p. 3326-3331, 2003.

BJARNSHOLT, T. The role of bacterial biofilms in chronic infections. **Apmis**, v. 121, p. 1-58, 2013.

BJARNSHOLT, T.; ALHEDE, M.; ALHEDE, M.; EICKHARDT-SØRENSEN, S. R.; MOSER, C.; KÜHL, M.; JENSEN, P. Ø.; HØIBY, N. The *in vivo* biofilm. **Trends in microbiology**, v. 21, n. 9, p. 466-474, 2013.

BLANCO, P. et al. Bacterial multidrug efflux pumps: much more than antibiotic resistance determinants. **Microorganisms**, v. 4, n. 1, p. 14, 2016.

BOERMEESTER, M. A.; DELLINGER, E. P.; EGGER, M.; GASTMEIER, P.; GUIRAO, X.; REN, J.; PITTET, D.; SOLOMKIN, J. S. New WHO recommendations on intraoperative and postoperative measures for surgical site infection prevention: an evidence-based global perspective. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 12, p. e288-e303, 2016.

BOLTZ, M. M.; HOLLENBEAK, C. S.; JULIAN, K. G.; ORTENZI, G.; DILLON, P. W. Hospital costs associated with surgical site infections in general and vascular surgery patients. **Surgery**, v. 150, n. 5, p. 934-942, 2011.

BOOTH, M. C.; PENCE, L. M.; MAHASRESHTI, P.; CALLEGAN, M. C.; GILMORE, M. S. Clonal associations among *Staphylococcus aureus* isolates from various sites of infection. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 1, p. 345-352, 2001.

BOR, T.; GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Evaluating the effectiveness of essential oils and combination of copper and lactic acid on the growth of *E. coli*. O157: H7 in laboratory medium. **Foods**, v. 5, n. 1, p. 14, 2016.

BOTELHO, M. A.; NOGUEIRA, N. A. P.; BASTOS, G. M.; FONSECA, S. G. C.; LEMOS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; MONTENEGRO, D.; RAO, J. H. V. S.; BRITO, G. A. C. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 3, p. 349-356, 2007.

BRATZLER, D. W.; DELLINGER, E. P.; OLSEN, K. M.; PERL, T. M.; AUWAERTER, P. G.; BOLON, M. K.; FISH, D. N.; NAPOLITANO, L. M.; SAWYER, R. G.; SLAIN, D.; STEINBERG, J. P.; WEINSTEIN, R. A. Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. **Surgical infections**, v. 14, n. 1, p. 73-156, 2013.

BRASIL. ANVISA. NOTA TÉCNICA GVIMS/GGTES/ANVISA nº 02/2021 - **Critérios Diagnósticos das Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde**. Brasília: Anvisa, 2021. 34p.

BRASIL. ANVISA. NOTA TÉCNICA GVIMS/GGTES/ANVISA nº 04/2020 - **Orientações para serviços de saúde: medidas de prevenção e controle que devem ser adotadas durante a assistência aos casos suspeitos ou confirmados de infecção pelo novo coronavírus (sars-cov-2) – atualizada em 25/02/2021**. Brasília: Anvisa, 2021. 118p.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira** / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011. 126p.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. IN nº 4, 13 de junho de 2014. **Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico**. Brasília, DF, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2616 de 1998. **Expede na forma de anexos I,II,III,IV,V, diretrizes e normas para a prevenção e o Controle de Infecções Hospitalares**. Diário oficial da União, 13 de maio, 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde RENISUS. **Relação nacional de plantas medicinais de interesse ao SUS**. Espécies vegetais. Disponível em: <<http://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/maio/07/renisus.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde**. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Brasília : Ministério da Saúde, 2012. 156 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica; n. 31).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos/Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos**, Departamento de

Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BUCKNALL, T. E. The effect of local infection upon wound healing: an experimental study. **British Journal of Surgery**, v. 67, n. 12, p. 851-855, 1980.

BUSH, K. Beta-lactamase inhibitors from laboratory to clinic. **Clinical microbiology reviews**, v. 1, n. 1, p. 109-123, 1988.

BUSSCHER, H. J.; VAN DER MEI, H. C.; SUBBIAHDOSS, G.; JUTTE, P. C.; VAN DEN DUNGEN, J. J.; ZAAT, S. A.; SCHULTZ, M. J.; GRAINGER, D. W. Biomaterial-associated infection: locating the finish line in the race for the surface. **Science translational medicine**, v. 4, n. 153, p. 153rv10-153rv10, 2012.

BUSH, K.; JACOBY, G. A.; MEDEIROS, A. A. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 39, n. 6, p. 1211, 1995.

CÁCERES, M.; HIDALGO, W.; STASHENKO, E.; TORRES, R.; ORTIZ, C. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Anti-Biofilm and Anti-Quorum Sensing Activities against Pathogenic Bacteria. **Antibiotics**, v. 9, n. 4, p. 147, 2020.

CARNEIRO, V. A.; DE FÁTIMA FURTADO, E.; SILVA, M. L. I.; SILVA, R. L.; FIDELIS, Q. C.; JÚNIOR, F. E. A. C Inhibition of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) biofilm formation on eugenol-impregnated surgical sutures. **African Journal of Microbiology Research**, v. 13, n. 9, p. 168-175, 2019.

CARTLIDGE, M. K.; HILL, A. T. Inhaled or nebulised ciprofloxacin for the maintenance treatment of bronchiectasis. **Expert opinion on investigational drugs**, v. 26, n. 9, p. 1091-1097, 2017.

CASANOVA, L. M.; COSTA, S. S. Interações sinérgicas em produtos naturais: potencial terapêutico e desafios. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, p. 575-595, 2017.

CASTRO, C. E.; RIBEIRO, J. M.; DINIZ, T. T.; ALMEIDA, A. C.; FERREIRA, L. C.; MARTINS, E. R.; DUARTE, E. R. Antimicrobial activity of *Lippia sidoides* Cham.(Verbenaceae) essential oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, n. 3, p. 293-297, 2011.

CATANZANO, O.; ACIERNO, S.; RUSSO, P.; CERVASIO, M.; DE CARO, M. D. B.; BOLOGNESE, A.; SAMMARTINO, G.; CALIFANO, L.; MARENZI, G.; CALIGNANO, A.; ACIERNO, D.; QUAGLIA, F. Melt-spun bioactive sutures containing nanohybrids for local delivery of anti-inflammatory drugs. **Materials Science and Engineering: C**, v. 43, p. 300-309, 2014.

CAVALCANTI, E. S. B.; MORAIS, S. M. D.; LIMA, M. A. A.; SANTANA, E. W. P. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, p. 541-544, 2004.

CHAMBLESS, J. D.; HUNT, S.M.; STEWART, P.S. A three-dimensional computer model of four hypothetical mechanisms protecting biofilms from antimicrobials. **Applied Environmental Microbiology**, v.72, n.3, 2006

CHANG, R.; GREENE, M.T.; CHENOWETH, C.E.; KUHN, L.; SHUMAN, E.; ROGERS, N.A.M., SAINT, S. Epidemiology of Hospital-Acquired Urinary Tract related blood Stream Infection at a University Hospital. **Infection Control Hospital Epidemiology**, v.32, p.1127-1129, 2011.

CHEN, X.; HOU, D.; WANG, L.; ZHANG, Q.; ZOU, J.; SUN, G. Antibacterial surgical silk sutures using a high-performance slow-release carrier coating system. **ACS applied materials & interfaces**, v. 7, n. 40, p. 22394-22403, 2015.

CHENG, H.; CHEN, B. P. H.; SOLEAS, I. M.; FERKO, N. C.; CAMERON, C. G.; HINOUL, P. Prolonged operative duration increases risk of surgical site infections: a systematic review. **Surgical infections**, v. 18, n. 6, p. 722-735, 2017.

CHENG, K.; LI, J.; KONG, Q.; WANG, C.; YE, N.; XIA, G. Risk factors for surgical site infection in a teaching hospital: a prospective study of 1,138 patients. **Patient preference and adherence**, v. 9, p. 1171, 2015.

CHOW, A. W.; JEWESSON, P. J. Pharmacokinetics and safety of antimicrobial agents during pregnancy. **Reviews of infectious diseases**, v. 7, n. 3, p. 287-313, 1985.

CHRISTENSEN, G. D.; SIMPSON, W. A.; YOUNGER, J. J.; BADDOUR, L. M.; BARRETT, F. F.; MELTON, D. M.; BEACHEY, E. H. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. **Journal of clinical microbiology**, v. 22, n. 6, p. 996-1006, 1985.

COPITCH, J. L.; WHITEHEAD, R. N.; WEBBER, M. A. Prevalence of decreased susceptibility to triclosan in *Salmonella enterica* isolates from animals and humans and association with multiple drug resistance. **International journal of antimicrobial agents**, v. 36, n. 3, p. 247-251, 2010.

CORREIA, S.; POETA, P.; HÉBRAUD, M.; CAPELO, J. L.; IGREJAS, G. Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand?. **Journal of medical microbiology**, v. 66, n. 5, p. 551-559, 2017.

COSTA, L. C. B.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; COSTA, J. C. D. B.; ALVES, P. B.; NICULAU, E. D. S. In vitro antifungal activity of *Ocimum selloi* essential oil and methylchavicol against phytopathogenic fungi1. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 2, p. 428-435, 2015.

COSTA, M. M.M. **Efeitos de um ciclo de melhoria da qualidade nacional aplicado à estruturação das ações de prevenção das infecções relacionadas à assistência à saúde em hospitais brasileiros**. Dissertação (Mestrado). Curso de Mestrado Profissional Gestão da Qualidade em Serviços da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal (RN), 2016.

COSTA, S. M. O.; LEMOS, T. L. G.; PESSOA, O. D. L.; PESSOA, C.; MONTENEGRO, R. C.; BRAZ-FILHO, R. Chemical Constituents from and Cytotoxic Activity. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 6, p. 792-795, 2001.

COUTINHO, H. D.; RODRIGUES, F. F.; NASCIMENTO, E. M.; COSTA, J. G.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P. Synergism of gentamicin and norfloxacin with the volatile compounds of *Lippia microphylla* Cham.(Verbenaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 23, n. 2, p. 24-28, 2011.

CRAFT, K. M.; NGUYEN, J. M.; BERG, L. J.; TOWNSEND, S. D. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. **MedChemComm**, v. 10, n. 8, p. 1231-1241, 2019.

CRISTANI, M.; D'ARRIGO, M.; MANDALARI, G.; CASTELLI, F.; SARPIETRO, M. G.; MICIELI, D.; VENUTI, V.; BISIGNANO, G.; SAIJA, A.; TROMBETTA, D. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 15, p. 6300-6308, 2007.

DALTON, H. M.; GOODMAN, A. E.; MARSHALL, K. C. Diversity in surface colonization behavior in marine bacteria. **Journal of industrial microbiology**, v. 17, n. 3-4, p. 228-234, 1996.

DASCHNER, F. D.; WESTENFELDER, M.; DALHOFF, A. Penetration of ciprofloxacin into kidney, fat, muscle and skin tissue. In: **Ciprofloxacin**. Vieweg+ Teubner Verlag, Wiesbaden, p. 81-82, 1986.

DE ALENCAR FILHO, J. M.; ARAÚJO, L. D. C., OLIVEIRA, A. P.; GUIMARÃES, A. L.; PACHECO, A. G.; SILVA, F. S.; CAVALCANTI, L. S.; LUCCHESI, A. M.; ALMEIDA, J. R. G. D. S.; ARAÚJO, E. C. D. C. DE ALENCAR FILHO, Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves of *Croton heliotropiifolius* in different seasons of the year. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 440-444, 2017.

DE ALMEIDA, W. S.; DE LIMA, S. G.; BARRETO, H. M.; DE SOUSA ANDRADE, L. M.; FONSECA, L.; SOBRINHO, C. A.; SANTOS, A. R. B.; MURATORI, M. C. S. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia lasiocalycina* Cham.(Verbenaceae). **Industrial Crops and Products**, v. 125, 2018.

DE ASSIS, E. L.; SILVEIRA, F. D.; DA PONTE, A. V. A.; REGIS, R. R. A Systematic Review of the Potential Effects of *Lippia sidoides* on Dental Plaque and Periodontal Diseases. **Planta Medica**, 2021.

DEBBABI, F.; GARGOUBI, S.; HADJ AYED, M. A.; ABDESSALEM, S. B. Development and characterization of antibacterial braided polyamide suture coated with chitosan-citric acid biopolymer. **Journal of biomaterials applications**, v. 32, n. 3, p. 384-398, 2017.

DE CUETO-LÓPEZ, M.; DEL POZO-LEÓN, J. L.; DE LUNA, F. F. Á.; MARIN-ARRIAZA, M. Diagnóstico microbiológico de las infecciones asociadas a dispositivos biomédicos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 34, n. 10, p. 655-660, 2016.

DE JESUS ALMEIDA, C.; ROMANO, U. A.; DAMIÃO, F. A.; DE MELO, K. C. Controle do biofilme em reservatórios e tubulações de água potável. **Atas de Saúde Ambiental-ASA (ISSN 2357-7614)**, v. 7, n. 1, p. 1, 2019.

DE MEDERROS, M. D. G. F.; DA SILVA, A. C.; CITÓ, A. M. D. G. L.; BORGES, A. R.; DE LIMA, S. G.; LOPES, J. A. D.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q. In vitro antileishmanial activity and cytotoxicity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Parasitology International**, v. 60, n. 3, p. 237-241, 2011.

DE OLIVEIRA, A. C.; DE CARVALHO, C. A.; DÓRIA, A. C. O. C.; DE LIMA, J. S. B.; PESSOA, R. S.; KHOURI, S. Avaliação do crescimento de biofilme de *Staphylococcus aureus*, *in vitro*, em lúmen de cateteres de poliuretano **Revista Univap**, v. 24, n. 46, p. 74-83, 2018.

DE PAULA, Suelen Balero et al. Effect of eugenol on cell surface hydrophobicity, adhesion, and biofilm of *Candida tropicalis* and *Candida dubliniensis* isolated from oral cavity of HIV-infected patients. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.

DE SOUZA, R. C.; DA COSTA, M. M.; BALDISSEROTTO, B.; HEINZMANN, B. M.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O.; COPATTI, C. E. Antimicrobial and synergistic activity of essential oils of *Aloysia triphylla* and *Lippia alba* against *Aeromonas* spp. **Microbial Pathogenesis**, v. 113, p. 29-33, 2017.

DESROSIERS, M.; VALERA, F. C. P. Admirável Mundo Novo (Microbiano): implicações para os distúrbios nasais e sinusais. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 85, n. 6, p. 675-677, 2019.

DE VOR, L.; ROOIJAKKERS, S. H. M.; VAN STRIJP, J. A. G. Staphylococci evade the innate immune response by disarming neutrophils and forming biofilms. **FEBS letters**, v. 594, n. 16, p. 2556-2569, 2020.

DHARAN, S.; PITTET, Didier. Environmental controls in operating theatres. **Journal of Hospital infection**, v. 51, n. 2, p. 79-84, 2002.

DIDRY, N.; DUBREUIL, L.; PINKAS, M. Microbiological properties of protoanemonin isolated from *Ranunculus bulbosus*. **Phytotherapy Research**, v. 7, n. 1, p. 21-24, 1993.

DOS SANTOS, Alessandra Estevam. **Desenvolvimento e avaliação de espuma dental, contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. para prevenção e tratamento de lesões bucais**. 2019. 228 f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019.

DRLICA, K.; ZHAO, X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 61, n. 3, p. 377-392, 1997.

DU, D.; WANG-KAN, X.; NEUBERGER, A.; VAN VEEN, H. W.; POS, K. M.; PIDDOCK, L. J.; LUISI, B. F. Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 9, p. 523-539, 2018.

DYAS, A.; WISE, R. Ampicillin and alternatives. **British medical journal (Clinical research ed.)**, v. 286, n. 6365, p. 583, 1983.

ECDC, ECfDPaC. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012. **Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) Stockholm**, 2013.

ECONOMOU, V.; GOUSIA, P. Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. **Infection and drug resistance**, v. 8, p. 49, 2015.

EDLICH, R.F.; GUBLER, K.; WALLIS, A.G.; CLARK, J.J.; DAHLSTROM, J.J.; LONG, W.B. Wound closure sutures and needles: a new perspective. **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**, v. 29, n. 4, p. 339-361, 2010.

EDMISTON, C. E.; SEABROOK, G. R.; GOHEEN, M. P.; KREPEL, C. J.; JOHNSON, C. P.; LEWIS, B. D.; BROWN, K. R.; TOWNE, J. B. Bacterial adherence to surgical sutures: can antibacterial-coated sutures reduce the risk of microbial contamination?. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 203, n. 4, p. 481-489, 2006.

EFFERTH, T.; KOCH, E. Complex interactions between phytochemicals. The multi-target therapeutic concept of phytotherapy. **Current drug targets**, v. 12, n. 1, p. 122-132, 2011.

EL ALAMA, H.; EL AISSAMI, A.; SAID, A. A. H.; EL ALAOUI-FARIS, F. E. Antistaphylococcal synergistic interaction between the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. and ciprofloxacin. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 10, p. 285-289, 2015.

ELBI, S.; NIMAL, T. R.; RAJAN, V. K.; BARANWAL, G.; BISWAS, R.; JAYAKUMAR, R.; SATHIANARAYANAN, S. Fucoïdan coated ciprofloxacin loaded chitosan nanoparticles for the treatment of intracellular and biofilm infections of *Salmonella*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 160, p. 40-47, 2017.

ENA, J.; AMADOR, C.; MARTINEZ, C.; DE LA TABLA, V. O.; KUNIN, C. M. Risk factors for acquisition of urinary tract infections caused by ciprofloxacin resistant *Escherichia coli*. **The Journal of urology**, v. 153, n. 1, p. 117-120, 1995.

ENGELSMAN, A. F.; VAN DER MEI, H. C.; PLOEG, R. J.; BUSSCHER, H. J. The phenomenon of infection with abdominal wall reconstruction. **Biomaterials**, v. 28, n. 14, p. 2314-2327, 2007.

EPPS, Q. J.; EPPS, K. L.; YOUNG, D. C.; ZOBELL, J. T. State of the art in cystic fibrosis pharmacology—Optimization of antimicrobials in the treatment of cystic fibrosis pulmonary exacerbations: I. Anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) antibiotics. **Pediatric Pulmonology**, v. 55, n. 1, p. 33-57, 2020.

E SILVA Patrícia Maria de Freitas. **Avaliação antimicrobiana de cateter urinário impregnado com sal de criptolepina em associação com antibiótico**. 2017. 137 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia RENORBIO) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

ESLAMI, S.; SARLAK, M. Forced degradation tests of ampicillin in medication forms. **Medbiotech Journal**, v. 2, n. 03, p. 113-117, 2018.

ESPOSITO, S.; GALANTE, D.; BARBA, D.; D'ERRICO, G.; MAZZONE, A.; MONTANARO, S. Ciprofloxacin concentrations in human fluids and tissues following a single oral dose. **International journal of clinical pharmacology research**, 1987.

ETEMADI, A.; BITARAF, T.; AMINI, A.; GOUDARZI, M.; NADAFPOUR, N. Bacterial Accumulation on Triclosan-Coated and Silk Sutures After Dental Implant Surgery. **Journal of research in dental and maxillofacial sciences**, 2019.

FABRIN, G.; VIZZOTTO, B. S. Resistência bacteriana a polimixinas: uma revisão dos atuais panoramas brasileiro e mundial. **Disciplinarum Scientia Saúde**, v. 20, n. 2, p. 321-339, 2019.

FADLI, M.; CHEVALIER, J.; SAAD, A.; MEZRIOUI, N. E.; HASSANI, L.; PAGES, J. M. Essential oils from Moroccan plants as potential chemosensitisers restoring antibiotic activity in resistant Gram-negative bacteria. **International journal of antimicrobial agents**, v. 38, n. 4, p. 325-330, 2011.

FARIAS, Isabela Albuquerque Passos. **Desenvolvimento e avaliação *in vitro* de revestimento de fio de sutura com nanopartículas antimicrobianas**. 2017. 31 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia RENORBIO) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

FELIX E SILVA, A.; PIRES, I. C.; DA COSTA, M. M.; MELO, J. F.; LORENZO, V. P.; DE MELO, F. V.; COPATTI, C. E. Antibacterial and antibiofilm activities and synergism with florfenicol from the essential oils of *Lippia sidoides* and *Cymbopogon citratus* against *Aeromonas hydrophila*. **Journal of Applied Microbiology**, 2021.

FERNANDES FILHO, E. S.; MORAIS, S. M. D.; FONSECA, S. G. D. C.; MOTA, O. M. D. L. Preparação e avaliação clínica de um anti-séptico bucal à base do óleo essencial da planta medicinal *Lippia sidoides* Cham (Alecrim pimenta). **Revista ABO nac**, p. 323-5, 1998.

FERNANDES, L. P.; CANDIDO, R. C.; OLIVEIRA, W. P. Spray drying microencapsulation of *Lippia sidoides* extracts in carbohydrate blends. **Food and bioproducts processing**, v. 90, n. 3, p. 425-432, 2012.

FILLGROVE, K. L.; PAKHOMOVA, S.; NEWCOMER, M. E.; ARMSTRONG, R. N. Mechanistic diversity of fosfomycin resistance in pathogenic microorganisms. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 51, p. 15730-15731, 2003.

FINLAY, W. H.; WONG, J. P. Regional lung deposition of nebulized liposome-encapsulated ciprofloxacin. **International journal of pharmaceuticals**, v. 167, n. 1-2, p. 121-127, 1998.

FLEMING, Alexander. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. **British journal of experimental pathology**, v. 10, n. 3, p. 226, 1929.

FLORES-ROJAS, G. G.; PINO-RAMOS, V. H.; LÓPEZ-SAUCEDO, F.; CONCHEIRO, A.; ALVAREZ-LORENZO, C.; BUCIO, E. Improved covalent immobilization of lysozyme on silicone rubber-films grafted with poly (ethylene glycol dimethacrylate-co-glycidylmethacrylate). **European Polymer Journal**, v. 95, p. 27-40, 2017.

FONTENELLE, R. O. S.; MORAIS, S. M.; BRITO, E. H. S.; KERNTOPF, M. R.; BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; TOMÉ, A. R.; QUEIROZ, M. G. R.; NASCIMENTO, N. R. F.; SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, n. 5, p. 934-940, 2007.

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

FRIERI, Marianne; KUMAR, Krishan; BOUTIN, Anthony. Antibiotic resistance. **Journal of infection and public health**, v. 10, n. 4, p. 369-378, 2017.

FURTADO, E. de F. **Análise das propriedades antifouling de fios de sutura revestidos com eugenol sobre a formação de biofilmes de *Streptococcus mutans* atc 25175**. 2017. Dissertação [Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia] – Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2017.

GALLEGOS-FLORES, P. I.; BAÑUELOS-VALENZUELA, R.; DELGADILLO-RUIZ, L.; MEZA-LÓPEZ, C.; ECHAVARRÍA-CHÁIREZ, F. Actividad antibacteriana de cinco compuestos terpenoides: carvacrol, limoneno, linalool, α -terpineno y timol. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 22, p. 241-248, 2019.

GAO, L.; SHI, Y.; LI, W.; LIU, J.; CAI, Y. Occurrence and distribution of antibiotics in urban soil in Beijing and Shanghai, China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 15, p. 11360-11371, 2015.

GARCÍA-SALINAS, S.; ELIZONDO-CASTILLO, H.; ARRUEBO, M.; MENDOZA, G.; IRUSTA, S. Evaluation of the antimicrobial activity and cytotoxicity of different components of natural origin present in essential oils. **Molecules**, v. 23, n. 6, p. 1399, 2018.

GILBERT, P.; MCBAIN, A. J. Literature-based evaluation of the potential risks associated with impregnation of medical devices and implants with triclosan. **Surgical infections**, v. 3, n. S1, p. s55-s63, 2002.

GIRÃO, V. C. C., NUNES-PINHEIRO, D. C., MORAIS, S. M., SEQUEIRA, J. L., GIOSSO, M. A. A clinical trial of the effect of a mouth-rinse prepared with *Lippia sidoides* Cham essential oil in dogs with mild gingival disease. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 59, p. 95-102, 2003.

GOEL, A. Surgical Sutures-A Review. **The Official Scientific Journal of Delhi Ophthalmological Society**, v. 26, n. 3, p. 159-162, 2016.

GRANSDEN, W. R.; EYKYN, S. J.; PHILLIPS, I.; ROWE, B. GRANSDEN, W. R. et al. Bacteremia due to *Escherichia coli*: a study of 861 episodes. **Reviews of infectious diseases**, v. 12, n. 6, p. 1008-1018, 1990.

GRIGORAS, R. I.; COPOTOIU, C.; COSARCA, A. S.; FULOP, E.; MARE, A.; BARBU, H. M.; HANCU, V.; COMANEANU, R. M., SUCIU, V. I.; ORMENISAN, A. In vitro Study About Bacterial Adhesion to the Surface of Suture Materials Used in Oro-maxilo-facial Surgery. **Materiale Plastice**, v. 53, n. 3, p. 501-4, 2016.

GUO, J.; PAN, L.H.; LI, Y.X.; YANG, X.D.; LI, L.Q.; ZHANG, C.Y.; ZHONG, J.H. Efficacy of triclosan-coated sutures for reducing risk of surgical site infection in adults: a metaanalysis of randomized clinical trials. **Journal of Surgical Research**, v. 201, n. 1, p. 105-117, 2016.

GUTIERREZ, J., BARRY-RYAN, C., BOURKE, P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. **International Journal of Food Microbiology**, v. 124, n. 1, p. 91-97, 2008.

HALL-STOODLEY, L.; COSTERTON, J. W.; STOODLEY, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. **Nature reviews microbiology**, v. 2, n. 2, p. 95-108, 2004.

HALL-STOODLEY, L.; STOODLEY, P. Developmental regulation of microbial biofilms. **Current opinion in biotechnology**, v. 13, n. 3, p. 228-233, 2002.

HAMMER, K. A.; HEEL, K. A. Use of multiparameter flow cytometry to determine the effects of monoterpenoids and phenylpropanoids on membrane polarity and permeability in staphylococci and enterococci. **International journal of antimicrobial agents**, v. 40, n. 3, p. 239-245, 2012.

HART, A.; NOWICKI, B. J.; REISNER, B.; PAWELCZYK, E.; GOLUSZKO, P.; URVIL, P.; ANDERSON, G.; NOWICKI, S. Ampicillin-resistant *Escherichia coli* in gestational pyelonephritis: increased occurrence and association with the colonization factor Dr adhesin. **The Journal of infectious diseases**, v. 183, n. 10, p. 1526-1529, 2001.

HARTMAN, B. J.; TOMASZ, A. Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. **Journal of bacteriology**, v. 158, n. 2, p. 513-516, 1984.

HAUSER, C. J.; ADAMS JR, C. A.; EACHEMPATI, S. R. Prophylactic antibiotic use in open fractures: an evidence-based guideline. **Surgical infections**, v. 7, n. 4, p. 379-405, 2006.

HE, K.; BLANEY, L. Systematic optimization of an SPE with HPLC-FLD method for fluoroquinolone detection in wastewater. **Journal of hazardous materials**, v. 282, p. 96-105, 2015.

HELANDER, I. M.; ALAKOMI, H. L.; LATVA-KALA, K.; MATTILA-SANDHOLM, T.; POL, I.; SMID, E.J.; GORRIS, L. G. M.; VON WRIGHT, A. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 46, n. 9, p. 3590-3595, 1998.

HELANDER, I. M.; LATVA-KALA, K.; LOUNATMAA, K. Permeabilizing action of polyethyleneimine on *Salmonella typhimurium* involves disruption of the outer membrane and interactions with lipopolysaccharide. **Microbiology**, v. 144, n. 2, p. 385-390, 1998.

HELKE, K. L.; MCCRACKING, M. A.; GALLOWAY, A. M.; POOLE, A. Z.; SALGADO, C. D.; MARRIOTT, B. P. Effects of antimicrobial use in agricultural animals on drug-resistant foodborne salmonellosis in humans: A systematic literature review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 57, n. 3, p. 472-488, 2017.

HEMAISWARYA, S.; KRUTHIVENTI, A. K.; DOBLE, M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. **Phytomedicine**, v. 15, n. 8, p. 639-652, 2008.

HENRY-STANLEY, M. J.; H.; HESS, D. J.; BARNES, A. M.; DUNNY, G. M.; WELLS, C. L. Bacterial contamination of surgical suture resembles a biofilm. **Surgical infections**, v. 11, n. 5, p. 433-439, 2010.

HEYDORN, A.; NIELSEN, A. T. HENTZER, M.; STERNBERG, C.; GIVSKOV, M.; ERSBØLL, B. K.; MOLIN, S. Quantification of biofilm structures by the novel computer program COMSTAT. **Microbiology**, v. 146, n. 10, p. 2395-2407, 2000.

HIRSCH, H. A.; DREHER, E.; PERROCHET, A.; SCHMID, E. Transfer of ampicillin to the fetus and amniotic fluid during continuous infusion (steady state) and by repeated single intravenous injections to the mother. **Infection**, v. 2, n. 4, p. 207-212, 1974.

HOBSON, C.; CHAN, A. N.; WRIGHT, G. D. The antibiotic resistome: A guide for the discovery of natural products as antimicrobial agents. **Chemical Reviews**, v. 121, n. 6, p. 3464-3494, 2021.

HØIBY, Niels. A personal history of research on microbial biofilms and biofilm infections. **Pathogens and disease**, v. 70, n. 3, p. 205-211, 2014.

HØIBY, N.; BJARNSHOLT, T.; GIVSKOV, M.; MOLIN, S.; CIOFU, O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. **International journal of antimicrobial agents**, v. 35, n. 4, p. 322-332, 2010.

HØIBY, N.; BJARNSHOLT, T.; MOSER, C.; BASSI, G. L.; COENYE, T.; DONELLI, G.; HALL-STOODLEY, L.; HOLÁ, V.; IMBERT, C.; KIRKETERP-MØLLER, K.; LEBEAUX, D.; OLIVER, A.; ULLMANN, A. J.; WILLIAMS, C. ESCMID guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections 2014. **Clinical microbiology and infection**, v. 21, p. S1-S25, 2015.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOLLEY, R.A.; PATEL, D. Improvement of shelflife and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, v. 22, p. 273–292, 2005.

HOLMES, A. H.; MOORE, L. S.; SUNDSFJORD, A.; STEINBAKK, M.; REGMI, S.; KARKEY, A.; GUERIN P. J.; PIDDOCK, L. J. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **The Lancet**, v. 387, n. 10014, p. 176-187, 2016.

HU, M.; HU, J. W.; HE, L.; Li, Y. S. Expression of bone modeling markers and formation of bacterial biofilm in middle ear of rats with chronic suppurative otitis media induced by *Pseudomonas Aeruginosa*. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 9, n. 10, p. 10002-10010, 2016.

IOVINO, F.; AURIEMMA, P. P.; DANI, L.; DONNARUMMA, G.; BARBARISI, A.; MALLARDO, V.; CALÒ, F.; COPPOLA, N. Suture thread check test for detection of surgical site contamination: a prospective study. **Journal of Surgical Research**, v. 220, p. 268-274, 2017.

ISKANDAR, Katia *et al.* Highlighting the gaps in quantifying the economic burden of surgical site infections associated with antimicrobial-resistant bacteria. **World Journal of Emergency Surgery**, v. 14, n. 1, p. 1-14, 2019.

IUNG, B. Endocardite infectieuse. Épidémiologie, physiopathologie et anatomopathologie. **La Presse Médicale**, v. 48, n. 5, p. 513-521, 2019.

JENSEN, A.; VALDÓRSSON, O.; FRIMODT-MØLLER, N.; HOLLINGSHEAD, S.; KILIAN, M. Commensal streptococci serve as a reservoir for β -lactam resistance genes in *Streptococcus pneumoniae*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 59, n. 6, p. 3529-3540, 2015.

JUDY, A. E.; FRYMOYER, A.; ANSARI, J.; DROVER, D. R.; CARVALHO, B. Ampicillin Pharmacokinetics in Peripartum and Laboring Women. **American Journal of Perinatology**, 2021.

JUSKO, W. J.; LEWIS, G. P. Comparison of ampicillin and hetacillin pharmacokinetics in man. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 62, n. 1, p. 69-76, 1973.

KAPER, James B.; NATARO, James P.; MOBLEY, Harry LT. Pathogenic escherichia coli. **Nature reviews microbiology**, v. 2, n. 2, p. 123-140, 2004.

KARLOWSKY, J. A.; JONES, M. E.; THORNSBERRY, C.; CRITCHLEY, I.; KELLY, L. J.; SAHM, D. F. Prevalence of antimicrobial resistance among urinary tract pathogens isolated from female outpatients across the US in 1999. **International journal of antimicrobial agents**, v. 18, n. 2, p. 121-127, 2001.

KASRATI, A.; JAMALI, C. A.; FADLI, M.; BEKKOUCHE, K.; HASSANI, L.; WOHLMUTH, H.; LEACH, D.; ABBAD, A. Antioxidative activity and synergistic effect of *Thymus saturejoides* Coss. essential oils with cefixime against selected food-borne bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 61, p. 338-344, 2014.

KATHJU, S.; NISTICO, L.; HALL-STOODLEY, L.; POST, J. C.; EHRLICH, G. D.; STOODLEY, P. Chronic surgical site infection due to suture-associated polymicrobial biofilm. **Surgical infections**, v. 10, n. 5, p. 457-461, 2009.

KATZ, S.; IZHAR, MORDECHAI; MIRELMAN, D. Bacterial adherence to surgical sutures. A possible factor in suture induced infection. **Annals of surgery**, v. 194, n. 1, p. 35, 1981.

KLAPPER, I.; RUPP, C. J.; CARGO, R.; PURVEDORJ, B.; STOODLEY, P. Viscoelastic fluid description of bacterial biofilm material properties. **Biotechnology and bioengineering**, v. 80, n. 3, p. 289-296, 2002.

KLAUSEN, M.; HEYDORN, A.; RAGAS, P.; LAMBERTSEN, L.; AAES-JØRGENSEN, A.; MOLIN, S.; TOLKER-NIELSEN, T. Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants. **Molecular microbiology**, v. 48, n. 6, p. 1511-1524, 2003.

KNEZEVIC, P.; ALEKSIC, V.; SIMIN, N.; SVIRCEV, E.; PETROVIC, A.; MIMICA-DUKIC, N. Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oils and their interactions with conventional antimicrobial agents against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 178, p. 125-136, 2016.

KOMURO, H.; KATO, T.; OKADA, S.; NAKATANI, K.; MATSUMOTO, R.; NISHIDA, K.; IIDA, M.; TSUJIMOTO, S.; SUGANUMA, T. Toxic shock syndrome caused by suture abscess with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with late onset after Caesarean section. **IDCases**, v. 10, p. 12-14, 2017.

KORSAK, D.; CHMIELOWSKA, C.; SZUPLEWSKA, M.; BARTOSIK, D. Prevalence of plasmid-borne benzalkonium chloride resistance cassette bcrABC and cadmium resistance cadA genes in nonpathogenic *Listeria spp.* isolated from food and food-processing environments. **International journal of food microbiology**, v. 290, p. 247-253, 2019.

KÖRSTGENS, V.; FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J.; BORCHARD, W. Uniaxial compression measurement device for investigation of the mechanical stability of biofilms. **Journal of microbiological methods**, v. 46, n. 1, p. 9-17, 2001.

KOTHARI, Charu *et al.* Community acquisition of β -lactamase producing Enterobacteriaceae in neonatal gut. **BMC microbiology**, v. 13, n. 1, p. 136, 2013.

KRONING, Isabela Schneid. **Diversidade genética, resistência a sanitizantes, formação de biofilme e expressão de genes de adesão em *Staphylococcus aureus* provenientes de leite**. 2019. 114 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

KRUTHI, N.; RAJASEKHAR, G.; ANURADHA, B.; KRISHNA PRASAD, L. Polyglactin 910 vs. triclosan coated polyglactin 910 in oral surgery: A comparative in vivo study. **Dentistry**, v. 4, n. 10, p. 1, 2014.

KWIATKOWSKI, P.; ŁOPUSIEWICZ, Ł.; KOSTEK, M.; DROŻIOWSKA, E.; PRUSS, A.; WOJCIUK, B.; SIENKIEWICZ, M.; ZIELINSKA-BLIZNIEWSKA, H.; DOLEGOWSKA, B. The antibacterial activity of lavender essential oil alone and in combination with octenidine dihydrochloride against MRSA strains. **Molecules**, v. 25, n. 1, p. 95, 2020.

LAMBERT, R. J. W.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P. J.; NYCHAS, G. J. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of applied microbiology**, v. 91, n. 3, p. 453-462, 2001.

LAMY, B.; TEWES, F.; SERRANO, D. R.; LAMARCHE, I.; GOBIN, P.; COUET, W.; HEALY, A. M.; MARCHAND, S. New aerosol formulation to control ciprofloxacin pulmonary concentration. **Journal of Controlled Release**, v. 271, p. 118-126, 2018.

LANGEVELD, W. T.; VELDHUIZEN, E. JÁ.; BURT, S. A. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. **Critical reviews in microbiology**, v. 40, n. 1, p. 76-94, 2014.

LA STORIA, A.; ERCOLINI, D.; MARINELLO, F.; DI PASQUA, R.; VILLANI, F.; MAURIELLO, F. Atomic force microscopy analysis shows surface structure changes in carvacrol-treated bacterial cells. **Research in microbiology**, v. 162, n. 2, p. 164-172, 2011.

LAWRENCE, J. R.; KORBER, D. R.; HOYLE, B. D.; COSTERTON, J. W.; CALDWELL, D. E. Optical sectioning of microbial biofilms. **Journal of bacteriology**, v. 173, n. 20, p. 6558-6567, 1991.

LEAPER, D.; OUSEY, K. Evidence update on prevention of surgical site infection. **Current opinion in infectious diseases**, v. 28, n. 2, p. 158-163, 2015.

LEBEAUX, D.; CHAUHAN, A.; RENDUELES, O.; BELOIN, C. From in vitro to *in vivo* models of bacterial biofilm-related infections. **Pathogens**, v. 2, n. 2, p. 288-356, 2013.

LEE, G. C.; REVELES, K. R.; ATTRIDGE, R. T.; LAWSON, K. A.; MANSI, I. A.; LEWIS, J. S.; FREI, C. R. Outpatient antibiotic prescribing in the United States: 2000 to 2010. **BMC medicine**, v. 12, n. 1, p. 96, 2014.

LEES, L.; MILSON, J. A.; KNIRSCH, A. K.; GREENHALGH, K. Sulbactam plus ampicillin: interim review of efficacy and safety for therapeutic and prophylactic use. **Reviews of infectious diseases**, v. 8, n. Supplement_5, p. S644-S650, 1986.

LEI, X.; LU, J.; LIU, Z.; TONG, Y.; LI, S. Concentration and distribution of antibiotics in water–sediment system of Bosten Lake, Xinjiang. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 3, p. 1670-1678, 2015.

LEKNES, K. N.; SELVIG, K. A.; BØE, O. E.; WIKESJÖ, U. M. Tissue reactions to sutures in the presence and absence of anti-infective therapy. **Journal of clinical periodontology**, v. 32, n. 2, p. 130-138, 2005.

LEWIS, R. E.; DIEKEMA, D. J.; MESSER, S. A.; PFALLER, M. A.; KLEPSE, M. E. Comparison of Etest, chequerboard dilution and time–kill studies for the detection of synergy or antagonism between antifungal agents tested against *Candida* species. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 49, n. 2, p. 345-351, 2002.

LIAO, J.; SCHURR, M. J.; SAUER, K. The MerR-like regulator BrIR confers biofilm tolerance by activating multidrug efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Journal of bacteriology**, v. 195, n. 15, p. 3352-3363, 2013.

LIAO, X.; LI, B.; ZOU, R.; DAI, Y.; XIE, S.; YUAN, B. Biodegradation of antibiotic ciprofloxacin: pathways, influential factors, and bacterial community structure. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 8, p. 7911-7918, 2016.

LI, H.; WANG, Z.; ROBLEDOLARA, J. A.; HE, J.; HUANG, Y.; CHENG, F. Antimicrobial Surgical Sutures: Fabrication and Application of Infection Prevention and Wound Healing. **Fibers and Polymers**, p. 1-13, 2021.

LIN, Q.; DESLOUCHES, B.; MONTELARO, R. C.; DI, Y. P. Prevention of ESKAPE pathogen biofilm formation by antimicrobial peptides WLBU2 and LL37. **International journal of antimicrobial agents**, v. 52, n. 5, p. 667-672, 2018.

LIN, Rong-Dih; CHIN, Yi-Ping; LEE, Mei-Hsien. Antimicrobial activity of antibiotics in combination with natural flavonoids against clinical extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella pneumoniae*. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 19, n. 7, p. 612-617, 2005.

LIN, Y.; CHANG, R. Y. K.; BRITTON, W. J.; MORALES, S.; KUTTER, E.; LI, J.; CHAN, H. K. Inhalable combination powder formulations of phage and ciprofloxacin for *P. aeruginosa* respiratory infections. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 142, p. 543-552, 2019.

LIOLIOS, C. C.; GORTZI, O.; LALAS, S.; TSAKNIS, J.; CHINOUE, I. Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity. **Food chemistry**, v. 112, n. 1, p. 77-83, 2009.

LIU, Y.; TAY, J.-H. Metabolic response of biofilm to shear stress in fixed-film culture. **Journal of applied microbiology**, v. 90, n. 3, p. 337-342, 2001.

LOBO, P. L. D.; FONTELES, C. S. R.; MARQUES, L. A. R. V.; JAMACARU, F. V. F.; DA CRUZ, S. G. F.; DE CARVALHO, C. B. M.; DE MORAES, M. E. A. The efficacy of three formulations of *Lippia sidoides* Cham. essential oil in the reduction of salivary *Streptococcus mutans* in children with caries: A randomized, double-blind, controlled study. **Phytomedicine**, v. 21, n. 8-9, p. 1043-1047, 2014.

LODE, H. M. Rational antibiotic therapy and the position of ampicillin/sulbactam. **International journal of antimicrobial agents**, v. 32, n. 1, p. 10-28, 2008.

LOUW, G. E.; WARREN, R. M.; GEY VAN PITTIUS, N. C.; MCEVOY, C. R. E.; VAN HELDEN, P. D.; VICTOR, T. C. A balancing act: efflux/influx in mycobacterial drug resistance. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 53, n. 8, p. 3181-3189, 2009.

LÓPEZ-SAUCEDO, F.; FLORES-ROJAS, G. G.; LÓPEZ-SAUCEDO, J.; MAGARIÑOS, B.; ALVAREZ-LORENZO, C.; CONCHEIRO, A.; BUCIO, E. Antimicrobial silver-loaded polypropylene sutures modified by radiation-grafting. **European Polymer Journal**, v. 100, p. 290-297, 2018.

MAHESH, L.; KUMAR, V. R.; JAIN, A.; SHUKLA, S.; ARAGONESES, J. M.; MARTÍNEZ GONZÁLEZ, J. M.; FERNÁNDEZ-DOMÍNGUEZ, M.; CALVO-GUIRADO, J. L. Bacterial Adherence Around Sutures of Different Material at Grafted Site: A Microbiological Analysis. **Materials**, v. 12, n. 18, p. 2848, 2019.

MANDAKHALIKAR, K.D.; CHUA, R.; PAUL, R.; TAMBYAH, P.A. Technologies for Prevention of Catheter Associated Urinary Tract Infection. **Current Treatment options in infectious diseases**, v.8,n.1;p.24–41, 2016.

MANANDHAR, S.; LUITEL, S.; DAHAL, R. K. In vitro antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. **Journal of tropical medicine**, v. 2019, 2019.

MARSHALL, K. C.; STOUT, RUBY; MITCHELL, R. Mechanism of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. **Microbiology**, v. 68, n. 3, p. 337-348, 1971.

MARTIN, E. T.; KAYE, K. S.; KNOTT, C.; NGUYEN, H.; SANTAROSSA, M.; EVANS, R.; BERTRAN, E.; JABER, L. Diabetes and risk of surgical site infection: a systematic review and meta-analysis. **Infection control & hospital epidemiology**, v. 37, n. 1, p. 88-99, 2016.

MASINI, B. D.; STINNER, D. J.; WATERMAN, S. M.; WENKE, J. C. Bacterial adherence to suture materials. **Journal of surgical education**, v. 68, n. 2, p. 101-104, 2011.

MASOOD, R.; HUSSAIN, T.; UMAR, M.; AZEEMULLAH, A. T.; RIAZ, S. In situ development and application of natural coatings on non-absorbable sutures to reduce incision site infections. **Journal of wound care**, v. 26, n. 3, p. 115-120, 2017.

MASOCATTO *et al.* Comparison of antimicrobial activity of thymol and carvacrol to chlorhexidine in surgery. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. e4310716310-e4310716310, 2021.

MATIAS, E. F.; SANTOS, K. K.; ALMEIDA, T. S.; COSTA, J. G.; COUTINHO, H. D. Phytochemical screening and modulation of antibiotic activity by *Ocimum gratissimum* L. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 1, n. 1, p. 57-60, 2011.

MAWALLA, B.; MSHANA, S. E.; CHALYA, P. L.; IMIRZALIOGLU, C.; MAHALU, W. Predictors of surgical site infections among patients undergoing major surgery at Bugando Medical Centre in Northwestern Tanzania. **BMC surgery**, v. 11, n. 1, p. 21, 2011.

MAUNDERS, E.; WELCH, M. Matrix exopolysaccharides; the sticky side of biofilm formation. **FEMS microbiology letters**, v. 364, n. 13, 2017.

MCMANUS, M. Claire. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 54, n. 12, p. 1420-1433, 1997.

MEDEIROS BARRETO, H.; FONTINELE, F. C.; DE OLIVEIRA, A. P.; ARCANJO, D. D. R.; CAVALCANTI DOS SANTOS, B. H.; DE ABREU, A. P. L.; COUTINHO, H. D. M.; DA SILVA, R. A. C.; DE SOUSA, T. O.; DE MEDEIROS, M. G. F.; LOPES CITÓ, A. M. D. G.; LOPES A. D. Phytochemical prospection and modulation of antibiotic activity in vitro by *Lippia origanoides* HBK in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

MENDELMAN, P. M.; CHAFFIN, D. O.; STULL, T. L.; RUBENS, C. E.; MACK, K. D.; SMITH, A. L. Characterization of non-beta-lactamase-mediated ampicillin resistance in *Haemophilus influenzae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 26, n. 2, p. 235-244, 1984.

MILADI, H.; ZMANTAR, T.; KOUIDHI, B.; AL QURASHI, Y. M. A.; BAKHROUF, A.; CHAABOUNI, Y.; MAHDOUANI, K.; CHAIEB, K. Synergistic effect of eugenol, carvacrol, thymol, p-cymene and γ -terpinene on inhibition of drug resistance and biofilm formation of oral bacteria. **Microbial pathogenesis**, v. 112, p. 156-163, 2017.

MILADINOVIĆ, D. L.; LLIĆ, B. S.; KOCIĆ, B. D.; MILADINOVIĆ, M. D. An *in vitro* antibacterial study of savory essential oil and geraniol in combination with standard antimicrobials. **Natural product communications**, v. 9, n. 11, p. 1934578X1400901125, 2014.

MINGMALAIRAK, Chatchai. Antimicrobial sutures: new strategy in surgical site infections. **Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances: Formatex Research Center**, v. 313, p. 23, 2011.

MONTEIRO, M. V. B.; DE MELO LEITE, A. K. R.; BERTINI, L. M.; DE MORAIS, S. M.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S. Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 2, p. 378-382, 2007.

MOREIRA, B. P.; DE SOUZA, V. Q.; DEBLE, L. P. A new species of *Lippia* Sect. *Dioicolippia* (Verbenaceae) from Rio Grande do Sul State, Brazil. **Brittonia**, v. 73, n. 3, p. 353-360, 2021.

MOTA, A. P. P.; DANTAS, J. C. P.; FROTA, C. C. Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citrates*, *Plectranthus amboinicus*, and *Cinnamomum zeylanicum* against *Mycobacterium tuberculosis*. **Ciência Rural**, v. 48, n. 6, 2018.

MONZANI, R. C.; BERTOLI, P. R.; VIAPIANA, R. Pneumonia nosocomial relacionada à colonização de microrganismos patógenos provenientes do acúmulo de biofilme dental. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 46, n. Especial, p. 0-0, 2018.

MURRAY, I. A.; LEWENDON, A.; SHAW, W. V. Stabilization of the imidazole ring of His-195 at the active site of chloramphenicol acetyltransferase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 266, n. 18, p. 11695-11698, 1991.

MÜSKEN, M.; DI FIORE, S.; DÖTSCH, A.; FISCHER, R.; HÄUSSLER, S. Genetic determinants of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm establishment. **Microbiology**, v. 156, n. 2, p. 431-441, 2010.

MYKHAILENKO, O.; KOVALYOV, V.; KOVALYOV, S.; KRECHUN, A. Isoflavonoides de los rizomas de *Iris hungarica* y actividad antibacteriana del extracto de rizomas seco. **Ars Pharmaceutica (Internet)**, v. 58, n. 1, p. 39-45, 2017.

NAAS, T.; OUESLATI, S.; BONNIN, R. A.; DABOS, M. L.; ZAVALA, A.; DORTET, L.; RETAILLEAU, P.; IORGA, B. I. Beta-lactamase database (BLDB)–structure and function. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 32, n. 1, p. 917-919, 2017.

NADAFPOUR, N.; MONTAZERI, M.; MORADI, M.; AHMADZADEH, S.; ETEMADI, A. Bacterial Colonization on Different Suture Materials Used in Oral Implantology: A Randomized Clinical Trial. **Frontiers in Dentistry**, 2021.

NAJJAR, P. A.; SMINK, D. S. Prophylactic antibiotics and prevention of surgical site infections. **Surgical Clinics**, v. 95, n. 2, p. 269-283, 2015.

NASCIMENTO, A. M.; BRANDÃO, M. G.; OLIVEIRA, G. B.; FORTES, I. C.; CHARTONE-SOUZA, E. Synergistic bactericidal activity of *Eremanthus*

erythropappus oil or β -bisabolene with ampicillin against *Staphylococcus aureus*. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 92, n. 1, p. 95-100, 2007.

NA'WAS, T.; HAWWARI, A.; HENDRIX, E.; HEBDEN, J.; EDELMAN, R.; MARTIN, M.; CAMPBELL, W.; NASO, R.; SCHWALBE, R.; Fattom, A. I. Phenotypic and genotypic characterization of nosocomial *Staphylococcus aureus* isolates from trauma patients. **Journal of clinical microbiology**, v. 36, n. 2, p. 414-420, 1998.

NEGUSSIE, A.; MULUGETA, G.; BEDRU, A.; ALI, I.; SHIMELES, D.; LEMA, T.; ASEFFA, A. Bacteriological profile and antimicrobial susceptibility pattern of blood culture isolates among septicemia suspected children in selected hospitals Addis Ababa, Ethiopia. **International journal of biological and medical research**, v. 6, n. 1, p. 4709, 2015.

NETO, O. D. C. C.; LOBO, L. A.; IORIO, N. L. P.; VASCONCELOS, M. D. F. C.; MAIA, L. C.; TANNURE, P. N.; ANTONIO, A. G. Oral bacteria adherence to suture threads: an *in vitro* study. **Oral and maxillofacial surgery**, v. 19, n. 3, p. 275-280, 2015.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of natural products**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.

NEU, H. C. The new beta-lactamase-stable cephalosporins. **Annals of Internal Medicine**, v. 97, n. 3, p. 408-419, 1982.

NEU, H. C. The crisis in antibiotic resistance. **Science**, v. 257, n. 5073, p. 1064-1073, 1992.

NICOLLE, L.E. Catheter associated urinary tract infections. **Antimicrobial resistance and infection Control**, v.3, n. 23, p 9-28, 2014

NICOLSON, K.; EVANS, G.; O'TOOLE, P. W. Potentiation of methicillin activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by diterpenes. **FEMS microbiology letters**, v. 179, n. 2, p. 233-239, 1999.

NOONAN, K. Y.; KIM, S. Y.; WONG, L. Y.; MARTIN, I. W.; SCHWARTZMAN, J. D.; SAUNDERS, J. E. Treatment of ciprofloxacin-resistant ear infections. **Otology & Neurotology**, v. 39, n. 9, p. e837-e842, 2018.

NUNES, R. D. S.; LIRA, A. A. M.; LACERDA, C. D. M.; SILVA, D. O. B. D.; SILVA, J. A. D.; SANTANA, D. P. D. Obtenção e avaliação clínica de dentifrícios à base do extrato hidroalcoólico da *Lippia sidoides* Cham (Verbenaceae) sobre o biofilme dentário. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 35, n. 4, p. 275-283, 2013.

OBERMEIER, A.; SCHNEIDER, J.; FÖHR, P.; WEHNER, S.; KÜHN, K. D.; STEMBERGER, A.; SCHIEKE M.; BURGKART, R. In vitro evaluation of novel antimicrobial coatings for surgical sutures using octenidine. **BMC microbiology**, v. 15, n. 1, p. 186, 2015.

OBERMEIER, A.; SCHNEIDER, J.; WEHNER, S.; MATL, F. D.; SCHIEKER, M.; von EISENHART-ROTHE, R.; STRMBERGER, A.; BURBKART, R. Novel high efficient coatings for anti-microbial surgical sutures using chlorhexidine in fatty acid slow-release carrier systems. **PloS one**, v. 9, n. 7, 2014.

OKEKE, I. N. et al. Antimicrobial resistance in developing countries. Part I: recent trends and current status. **The Lancet infectious diseases**, v. 5, n. 8, p. 481-493, 2005.

OLADIMEJI, F.A.; ORAFIDIYA, L.O.; OKEKE, I.N. Physical properties and antimicrobial activities of leaf essential oils of *Lippia multiflora* Moldenke. **International Journal Aromather**, v.14, p. 162–168, 2004.

O'LEARY, N.; CALVIÑO, C. I.; MARTÍNEZ, S.; LU-IRVING, P.; OLMSTEAD, R. G.; MÚLGURA, M. E. Evolution of morphological traits in Verbenaceae. **American Journal of Botany**, v. 99, n. 11, p. 1778-1792, 2012.

OLESEN, B.; KOLMOS, H. J.; ØRSKOV, F.; ØRSKOV, I. A comparative study of nosocomial and community-acquired strains of *Escherichia coli* causing bacteraemia in a Danish University Hospital. **Journal of Hospital Infection**, v. 31, n. 4, p. 295-304, 1995.

OLIPHANT, C. M.; EROSCHENKO, K. Antibiotic resistance, Part 1: Gram-positive pathogens. **The Journal for Nurse Practitioners**, v. 11, n. 1, p. 70-78, 2015.

OMS Organização Mundial da Saúde. 2017. Disponível em <http://who.int/mediacentre/news/releases/2017/Bacteria-antibiotics-needed/en/> (acesso em dezembro de 2018).

OLIVEIRA, F. P. D.; LIMA, E. D. O.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. P. D.; SOUZA, E. L. D.; SANTOS, B. H. C.; BARRETO, H. M. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 510-516, 2006.

OLIVEIRA, J. H. H. L.; GRANATO, A. C.; HIRATA, D. B.; HOKKA, C. O.; BARBOZA, M.; TRSIC, M. Ácido clavulânico e cefamicina c: uma perspectiva da biossíntese, processos de isolamento e mecanismo de ação. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2142-2150, 2009.

OLIVEIRA, M. L. M.; BEZERRA, B. M. O.; LEITE, L. O.; GIRÃO, V. C. C.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S. Topical continuous use of *Lippia sidoides* Cham. essential oil induces cutaneous inflammatory response, but does not delay wound. **Journal Ethnopharmacology**, v. 153, p. 283-289, 2014.

OLIVEIRA, R. A.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA, I. O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S.; SILVA-FILHO, R. N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 77-82, 2006.

O'TOOLE, G.; KAPLAN, H. B.; KOLTER, R. Biofilm formation as microbial development. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 49-79, 2000.

O'TOOLE, G. A. (2011). **Microtiter Dish Biofilm Formation Assay**. JoVE. 47. <http://www.jove.com/details.php?id=2437>, doi: 10.3791/2437.

OWEN, L.; LAIRD, K. Synchronous application of antibiotics and essential oils: dual mechanisms of action as a potential solution to antibiotic resistance. **Critical reviews in microbiology**, v. 44, n. 4, p. 414-435, 2018.

OWENS, C. D.; STOESSEL, K. Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. **Journal of hospital infection**, v. 70, p. 3-10, 2008.

PALOMINO, J.C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; PORTAELS, F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.8, n. 46, p.2720-2, 2002.

PALZKILL, T. Metallo- β -lactamase structure and function. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1277, p. 91, 2013.

PARENTE, M. S. R.; CUSTÓDIO, F. R.; CARDOSO, N. A.; LIMA, M. J. A.; MELO, T. S. D.; LINHARES, M. I.; SIQUEIRA, R. M. P.; NASCIMENTO, A. A.; CATUNDA JÚNIOR, F. E. A.; MELO, C. T. V. D. Antidepressant-like effect of *Lippia sidoides* CHAM (verbenaceae) essential oil and its major compound thymol in mice. **Scientia pharmaceutica**, v. 86, n. 3, p. 27, 2018.

PARIROKH, M.; ASGARY, S.; EGHBAL, M. J.; STOWE, S.; KAKOEI, S. A scanning electron microscope study of plaque accumulation on silk and PVDF suture materials in oral mucosa. **International endodontic journal**, v. 37, n. 11, p. 776-781, 2004.

PARLET, C. P.; BROWN, M. M.; HORSWILL, A. R. Commensal staphylococci influence *Staphylococcus aureus* skin colonization and disease. **Trends in microbiology**, v. 27, n. 6, p. 497-507, 2019.

PARTRIDGE, S. R.; KWONG, S. M.; FIRTH, N.; JENSEN, S. O. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. **Clinical microbiology reviews**, v. 31, n. 4, p. e00088-17, 2018.

PHAM, T. D. M.; ZIORA, Z. M.; BLASKOVICH, M. A. T. Quinolone antibiotics. **Medchemcomm**, v. 10, n. 10, p. 1719-1739, 2019.

PEJČIĆ, M. STOJANOVIĆ-RADIĆ, Z.; GENČIĆ, M.; DIMITRIJEVIĆ, M.; RADULOVIĆ, N. Anti-virulence potential of basil and sage essential oils: Inhibition of biofilm formation, motility and pyocyanin production of *Pseudomonas aeruginosa* isolates. **Food and Chemical Toxicology**, p. 111431, 2020.

PELZ, K.; TODTMANN, N.; OTTEN, J. E. Comparison of antibacterial-coated and non-coated suture material in intraoral surgery by isolation of adherent bacteria. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 22, n. 3, 2015.

PERCIVAL, S. L. Importance of biofilm formation in surgical infection. **British Journal of Surgery**, v. 104, n. 2, p. e85-e94, 2017.

PEREIRA, S. G.; ROSA, A. C.; FERREIRA, A. S.; MOREIRA, L. M.; PROENÇA, D. N.; MORAIS, P. V.; CARDOSO, O. Virulence factors and infection ability of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a hydropathic facility and respiratory infections. **Journal of applied microbiology**, v. 116, n. 5, p. 1359-1368, 2014.

PÉREZ-CANO, H. J.; ROBLES-CONTRERAS, A. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. **Revista médica MD**, v. 4, n. 3, p. 187-192, 2013.

PÉREZ ZAMORA, C. M.; TORRES, C. A.; NUÑEZ, M. B. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Verbenaceae species growing in South America. **Molecules**, v. 23, n. 3, p. 544, 2018.

PETERS, G.; LOCCI, R.; PULVERER, G. Adherence and growth of coagulase-negative staphylococci on surfaces of intravenous catheters. **Journal of Infectious Diseases**, v. 146, n. 4, p. 479-482, 1982.

PILLAI, S.K.; MOELLERING, R.C. **Antimicrobial combinations**. Antibiotics in laboratory medicine. Lippincott Williams & Wilkins, New York, 2005, p. 365-400.

PIÑA-ITURBE, A.; SUAZO, I. D.; HOPPE-ELSHOLZ, G.; ULLOA-ALLENDES, D.; GONZÁLEZ, P. A.; KALERGIS, A. M.; BUENO, S. M. Horizontally acquired homologs of xenogeneic silencers: modulators of gene expression encoded by plasmids, phages and genomic islands. **Genes**, v. 11, n. 2, p. 142, 2020.

PITTS, B.; HAMILTON, M. A.; ZELVER, N.; STEWART P. S. A microtiter-plate screening method for biofilm disinfection and removal. **Journal of Microbiological Methods**, v. 54, n. 2, p. 269-276, 2003.

PLETZER, D.; MANSOUR, S. C.; HANCOCK, R. E. W. Synergy between conventional antibiotics and anti-biofilm peptides in a murine, sub-cutaneous abscess model caused by recalcitrant ESKAPE pathogens. **PLoS pathogens**, v. 14, n. 6, 2018.

PORFÍRIO, E. M.; MELO, H. M.; PEREIRA, A. M. G.; CAVALCANTE, T. T. A.; GOMES, G. A.; CARVALHO, M. G. D.; COSTA, R. A.; JÚNIOR, F. E. A. C. *In vitro* antibacterial and antibiofilm activity of *Lippia alba* essential oil, citral, and carvone against *Staphylococcus aureus*. **The Scientific World Journal**, v. 2017, 2017.

PUCCI, M. J.; DOUGHERTY, T. J. Direct quantitation of the numbers of individual penicillin-binding proteins per cell in *Staphylococcus aureus*. **Journal of Bacteriology**, v. 184, n. 2, p. 588-591, 2002.

QUEIROZ, M. R. A.; ALMEIDA, A. C.; ANDRADE, V. A.; LIMA, T. S.; MARTINS, E. R.; FIGUEIREDO, L. S.; CARELI, R. T. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia origanoides* frente à *Staphylococcus sp.* isolados de alimentos de origem animal. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 16, n. 3, p. 737-743, 2014.

RAFAILIDIS, P. I.; IOANNIDOU, E. N.; FALAGAS, M. E. Ampicillin/Sulbactam. **Drugs**, v. 67, n. 13, p. 1829-1849, 2007.

RAMBERSAD, S. N. Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays. **Sensors**, v. 12, p. 12347-12360, 2012.

RANCAN, F.; CONTARDI, M.; JURISCH, J.; BLUME-PEYTAVI, U.; VOGT, A.; BAYER, I. S.; SCHAUDINN, C. Evaluation of drug delivery and efficacy of ciprofloxacin-loaded povidone foils and nanofiber mats in a wound-infection model based on ex vivo human skin. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 10, p. 527, 2019.

RASMUSSEN, Birger. Filamentous microfossils in a 3,235-million-year-old volcanogenic massive sulphide deposit. **Nature**, v. 405, n. 6787, p. 676-679, 2000.

RAVEENDRAN, R.; ADITHAN, C.; SRIRAM, G.; KRISHNAN, M.; BAPNA, J. S. Ampicillin pharmacokinetics in Indian geriatric subjects. **Indian journal of medical sciences**, v. 44, n. 3, p. 61-64, 1990.

REIS, Fernanda Barbosa dos. **Bioconservação de pescado (surubim - *Pseudoplatystoma sp.*) com utilização da bactéria láctica bacteriocinogênica (*Carnobacterium maltaromaticum* C2) e de extratos vegetais de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.).** 2010. Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Farmácia) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

RIBEIRO, Kalline Lourenço. **Desenvolvimento de cateteres venosos centrais modificados com peptídeos antimicrobianos para redução da incidência de biofilmes.** 2016. 134 f. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

RODRÍGUEZ-GUARDADO, A.; BLANCO, A.; CARTÓN, J. A. Ampicillin/sulbactam in combination: a review of its use in the treatment of severe bacterial infections. **Clinical Medicine Reviews in Therapeutics**, v. 2, p. 245-257, 2010.

SAGGERS, B. A.; LAWSON, D. Some observations on the penetration of antibiotics through mucus *in vitro*. **Journal of clinical pathology**, v. 19, n. 4, p. 313-317, 1966.

SAKER, S. D.; NAHAR, L.; KUMARASAMY, Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. **Methods**, v.4, n. 42, p.321- 324, 2007.

SANDERS, D.; LAMBIE, J.; BOND, P.; MOATE, R.; STEER, J. A. An in vitro study assessing the effect of mesh morphology and suture fixation on bacterial adherence. **Hernia**, v. 17, n. 6, p. 779-789, 2013.

SANTAJIT, S.; INDRAWATTANA, N. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. **BioMed research international**, v. 2016, 2016.

SANTOS, S. C.; COSTA, W. F.; BATISTA, F.; SANTOS, L. R.; FERRI, P. H.; FERREIRA, H. D.; SERAPHIN, J. C. Variação sazonal dos teores de taninos em cascas de espécies de barbatimão. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, 2006.

SARAIVA, A. G. Q.; SARAIVA, G. D.; ALBUQUERQUE, R. L.; NOGUEIRA, C. E. S.; TEIXEIRA, A. M. R.; LIMA, L. B.; CRUZ, B. G.; DE SOUSA, F. F. Chemical analysis and vibrational spectroscopy study of essential oils from *Lippia sidoides* and of its major constituent. **Vibrational Spectroscopy**, v. 110, p. 103111, 2020.

SARRAZIN, S. L. F.; DA SILVA, L. A.; OLIVEIRA, R. B.; RAPOSO, J. D. A.; DA SILVA, J. K. R.; SALIMENA, F. R. G.; MAIA, J. G. S.; MOURÃO, R. H. V. Antibacterial action against food-borne microorganisms and antioxidant activity of carvacrol-rich oil from *Lippia origanoides* Kunth. **Lipids in health and disease**, v. 14, n. 1, p. 145, 2015.

SATO, Y.; SHIBATA, H.; ARAKAKI, N.; HIGUTI, T. 6, 7-Dihydroxyflavone dramatically intensifies the susceptibility of methicillin-resistant or-sensitive *Staphylococcus aureus* to β -lactams. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 48, n. 4, p. 1357-1360, 2004.

SATYANARAYANA, M. U. K.; JACKSON, S.; BARRACLOUGH, R.; MASCHERA, B.; SIMPSON, K. D.; PASCAL, T. G.; DURVIAUX, S.; HESSEL, E. M.; SINGH, D. Ampicillin resistance in *Haemophilus influenzae* from COPD patients in the UK. **International journal of chronic obstructive pulmonary disease**, v. 12, p. 1507, 2017.

SAUER, K.; CAMPER, A. K.; EHRLICH, G. D.; COSTERTON, J. W.; DAVIES, D. G. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. **Journal of bacteriology**, v. 184, n. 4, p. 1140-1154, 2002.

SAVELI, C. C.; MORGAN, S. J.; BELKNAP, R. W.; ROSS, E.; STAHEL, P. F.; CHAUS, G. W.; HAK, D. J.; BIFFL, W. L.; KNEPPER, B.; Price, C. S. Prophylactic antibiotics in open fractures: a pilot randomized clinical safety study. **Journal of orthopaedic trauma**, v. 27, n. 10, p. 552-557, 2013.

SCAFFARO, R.; BOTTA, L.; SANFILIPPO, M.; GALLO, G.; PALAZZOLO, G.; PUGLIA, A. M. Combining in the melt physical and biological properties of poly (caprolactone) and chlorhexidine to obtain antimicrobial surgical monofilaments. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 97, n. 1, p. 99-109, 2013.

SCHWARZ, S.; KEHRENBURG, C.; DOUBLET, B.; CLOECKAERT, A. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. **FEMS microbiology reviews**, v. 28, n. 5, p. 519-542, 2004.

SENGUPTA, M.; BANERJEE, D.; SENGUPTA, M.; SARKAR, S.; NAG, S.; SINGH, R.K.M. In vitro efficacy of triclosan coated polyglactin 910 suture against common bacterial pathogen causing surgical site infection. **International Journal Infection Control**, v. 10, n. 2, p. 1-6, 2014.

SESSLER, D. I. Non-pharmacologic prevention of surgical wound infection. **Anesthesiology Clinics of North America**, v. 24, n. 2, p. 279-297, 2006.

SETHI, K. S.; KARDE, P. A.; JOSHI, C. P. Comparative evaluation of sutures coated with triclosan and chlorhexidine for oral biofilm inhibition potential and antimicrobial activity against periodontal pathogens: An *in vitro* study. **Indian Journal of Dental Research**, v. 27, n. 5, p. 535, 2016.

SHAH, A. A.; HASAN, F.; AHMED, S.; HAMEED, A. Extended-spectrum β -lactamases (ESBLs): Characterization, epidemiology and detection. **Critical reviews in microbiology**, v. 30, n. 1, p. 25-32, 2004.

SHAPIRO, D. J.; HICKS, L. A.; PAVIA, A. T.; HERSH, A. L. Antibiotic prescribing for adults in ambulatory care in the USA, 2007–09. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 1, p. 234-240, 2014.

SHARMA, G.; GUPTA, V. K.; AGARWAL, S.; BHOGAL, S.; NAUSHAD, M.; KUMAR, A.; STADLER, F. J. Fabrication and characterization of trimetallic nano-photocatalyst for remediation of ampicillin antibiotic. **Journal of molecular liquids**, v. 260, p. 342-350, 2018.

SHARMA, G.; SHARMA, S.; SHARMA, P., CHANDOLA, D.; DANG, S.; GUPTA, S.; GABRANI, R. Escherichia coli biofilm: development and therapeutic strategies. **Journal of applied microbiology**, v. 121, n. 2, p. 309-319, 2016.

SHARMA, S.; SHABIR, S. The Menace of Nosocomial Infections. **Global Journal of Otolaryngology**, v.7, n. 4, p.1-3, 2017.

SHELDON, A. T. Antibiotic resistance: a survival strategy. **Clinical Laboratory Science**, v. 18, n. 3, p. 170, 2005.

SIEVERT, D.M.; RICKS, P.; EDWARDS, J.R.; SCHNEIDER, A.; PATEL, J.; SRINIVASAN, A.; KALLEN, A.; LIMBAGO, B.; FRIDKIN, S. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated with Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 34, n. 1, p. 1-14, 2013.

SILVER, E.; WU, R.; GRADY, J.; SONG, L. Knot Security- How is it Affected by Suture Technique, Material, Size, and Number of Throws? **Journal Oral Maxillofacial Surgery**, v. 74, n. 7, p. 1304-1312, 2016.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia**: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Editora Artmed, 2017.

SMITH, J. T. Awakening the slumbering potential of the 4-quinolone antibacterials. **Pharmaceutical Journal**, v. 233, p. 299-305, 1984.

SMITH, S. M.; ENG, R. H.; TECSON-TUMANG, F. Ciprofloxacin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections or colonizations. **Antimicrobial agents and Chemotherapy**, v. 33, n. 2, p. 181-184, 1989.

SOTO, S.M.; Importance of Biofilms in Urinary Tract Infections. New Therapeutic Approaches. **Advances in Biology**, v.2014, n.2014, p.1-14, 2014.

SOUZA, E. L.; OLIVEIRA, C. E. V.; STAMFORD, T. L. M.; CONCEIÇÃO, M. L.; GOMES NETO, N. J. Influence of carvacrol and thymol on the physiological attributes, enterotoxin production and surface characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 1, p. 29-36, 2013.

SOUZA, T. M., MOREIRA, R. R. D., PIETRO, R. C. R. L., ISAAC, V. L. B. Avaliação da atividade antisséptica do extrato seco de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e de preparação cosmética contendo este extrato. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.1, p. 71-75, 2007.

SPOERING, A. L.; LEWIS, K. I. M. Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. **Journal of bacteriology**, v. 183, n. 23, p. 6746-6751, 2001.

STEWART, Philip S. Diffusion in biofilms. **Journal of bacteriology**, v. 185, n. 5, p. 1485-1491, 2003.

STEWART, Philip S. Antimicrobial tolerance in biofilms. **Microbial biofilms**, p. 269-285, 2015.

STOODLEY, P.; DODDS, I.; BOYLE, J. D.; LAPPIN-SCOTT, H. M. Influence of hydrodynamics and nutrients on biofilm structure. **Journal of applied microbiology**, v. 85, n. S1, p. 19S-28S, 1998.

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

STORM, D. R.; ROSENTHAL, K. S.; SWANSON, P. E. Polymyxin and related peptide antibiotics. **Annual review of biochemistry**, v. 46, n. 1, p. 723-763, 1977.

SUDHA, D.; DHURAI, B.; PONTANGAM, T. Development of herbal drug loaded antimicrobial silk suture. **Indian Journal of Fibre & Textile Research (IJFTR)**, v. 42, n. 3, p. 286-290, 2017.

TAKESUE, Yoshio et al. Nationwide surveillance of antimicrobial susceptibility patterns of pathogens isolated from surgical site infections (SSI) in Japan. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 18, n. 6, p. 816-826, 2012.

TALBOT, T. R. Diabetes mellitus and cardiothoracic surgical site infections. **American journal of infection control**, v. 33, n. 6, p. 353-359, 2005.

TAMBYAH, P.A.; OON, J. Catheter associated urinary tract infection. **Current Opinion in Infection Disease**, v.25, n.4, p.365-70, 2012

TANG, S. S.; APISARNTHANARAK, A.; HSU, L. Y. Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community-and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. **Advanced drug delivery reviews**, v. 78, p. 3-13, 2014.

TASSOU, C. C.; NYCHAS, G. J. E. Antimicrobial activity of the essential oil of mastic gum (*Pistacia lentiscus* var. *chia*) on Gram positive and Gram negative bacteria in broth and in Model Food System. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 36, n. 3-4, p. 411-420, 1995.

TAVARES, W. **Manual de Antibióticos**. 3. ed., Atheneu, 1985, p.154-165.

TENOVER, F. C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **The American journal of medicine**, v. 119, n. 6, p. S3-S10, 2006.

TOLKER-NIELSEN, T.; BRINCH, U. C.; RAGAS, P. C.; ANDERSEN, J. B.; JACOBSEN, C. S.; MOLIN, S. Development and dynamics of *Pseudomonas* sp. biofilms. **Journal of bacteriology**, v. 182, n. 22, p. 6482-6489, 2000.

THOMSON, J. M.; BONOMO, R. A. The threat of antibiotic resistance in Gram-negative pathogenic bacteria: β -lactams in peril!. **Current opinion in microbiology**, v. 8, n. 5, p. 518-524, 2005.

TONG, S. Y.; DAVIS, J. S.; EICHENBERGER, E.; HOLLAND, T. L.; FOWLER, V. G. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 3, p. 603-661, 2015.

RAN, T. T.; VIDAILLAC, C.; YU, H.; YONG, V. F.; ROIZMAN, D.; CHANDRASEKARAN, R.; LIM, A. Y. H.; LOW, T. B.; TAN, G. L.; ABISHEGANADEN, J. A.; KOH, M. S.; TEO, J.; CHTIRMALL, S. H.; HADINOTO, K. A new therapeutic avenue for bronchiectasis: dry powder inhaler of ciprofloxacin nanoplex exhibits superior ex vivo mucus permeability and antibacterial efficacy to its native ciprofloxacin counterpart. **International journal of pharmaceutics**, v. 547, n. 1-2, p. 368-376, 2018.

TUMMALAPALLI, M.; ANJUM, S.; KUMARI, S.; Gupta, B. Antimicrobial surgical sutures: Recent developments and strategies. **Polymer Reviews**, v. 56, n. 4, p. 607-630, 2016.

TURINA, M.; CHEADLE, W. G. Management of established surgical site infections. **Surgical Infections**, v. 7, n. Supplement 3, p. s-33-s-41, 2006.

UENO, M.; SAITO, W.; YAMAGATA, M.; IMURA, T.; INOUE, G.; NAKAZAWA, T.; TAKAHIRA, N.; UCHIDA, K.; FUKAHORI, N.; SHIMOMURA, K.; TAKASO, M. Triclosan-coated sutures reduce wound infections after spinal surgery: a retrospective, nonrandomized, clinical study. **The Spine Journal**, v. 15, n. 5, p. 933-938, 2015.

ULTEE, A.; BENNINK, M. H. J.; MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Applied and environmental microbiology**, v. 68, n. 4, p. 1561-1568, 2002.

UPADHYAY, A.; UPADHYAYA, I.; KOLLANOOR-JOHNY, A.; VENKITANARAYANAN, K. Antibiofilm effect of plant derived antimicrobials on *Listeria monocytogenes*. **Food microbiology**, v. 36, n. 1, p. 79-89, 2013.

VAN LAAR, T. A.; CHEN, T.; YOU, T.; LEUNG, K. P. Sublethal concentrations of carbapenems alter cell morphology and genomic expression of *Klebsiella pneumoniae* biofilms. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 59, n. 3, p. 1707-1717, 2015.

VAN VUUREN, S.; VILJOEN, A. Plant-based antimicrobial studies—methods and approaches to study the interaction between natural products. **Planta medica**, v. 77, n. 11, p. 1168-1182, 2011.

VASTAG, Brian. New vaccine decreases rate of nosocomial infections. **JAMA**, v. 285, n. 12, p. 1565-1566, 2001.

VERAS, H. N.; RODRIGUES, F. F.; BOTELHO, M. A.; MENEZES, I. R.; COUTINHO, H. D.; COSTA, J. G. Antimicrobial effect of *Lippia sidoides* and thymol on *Enterococcus faecalis* biofilm of the bacterium isolated from root canals. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

VERAS, H. N.; RODRIGUES, F. F.; BOTELHO, M. A.; MENEZES, I. R.; COUTINHO, H. D.; COSTA, J. G. Enhancement of aminoglycosides and β -lactams antibiotic activity by essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the Thymol. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S2790-S2795, 2017.

VERAS, H. N.; RODRIGUES, F. F.; COLARES, A. V.; MENEZES, I. R.; COUTINHO, H. D.; BOTELHO, M. A.; COSTA, J. G. Synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol. **Fitoterapia**, v. 83, n. 3, p. 508-512, 2012.

VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, D.; GALVÃO, J. A.; MAZINE, M. R.; GLORIA, E. M.; OETTERER, M. Control of *Staphylococcus aureus* biofilms by the application of single and combined treatments based in plant essential oils. **International journal of food microbiology**, v. 286, p. 128-138, 2018.

VINOGRADOV, A. M.; WINSTON, M.; RUPP, C. J.; STOODLEY, P. Rheology of biofilms formed from the dental plaque pathogen *Streptococcus mutans*. **Biofilms**, v. 1, n. 1, p. 49-56, 2004.

WAGNER, H.; ULRICH-MERZENICH, G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. **Phytomedicine**, v. 16, n. 2-3, p. 97-110, 2009.

WANG, S.; HE, W.; SUN, W.; ZHANG, J.; CHANG, Y.; CHEN, D.; MURCHIE, A. I. Integron-derived aminoglycoside-sensing riboswitches control aminoglycoside acetyltransferase resistance gene expression. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 63, n. 6, 2019.

WALKER, G.; RUDE, M.; CIRILLO, S. L.; CIRILLO, J. D. Efficacy of using sutures treated with povidone-iodine or chlorhexidine for preventing growth of *Staphylococcus* and *Escherichia coli*. **Plastic and reconstructive surgery**, v. 124, n. 1, p. 191e-193e, 2009.

WEBB, J. S.; THOMPSON, L. S.; JAMES, S.; CHARLTON, T.; TOLKER-NIELSEN, T.; KOCH, B.; GIVSKOV, M.; KJELLEBERG, S. Cell death in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. **Journal of bacteriology**, v. 185, n. 15, p. 4585-4592, 2003.

WEBBER, B.; OLIVEIRA, A. P. D.; POTTKER, E. S.; DAROIT, L.; LEVANDOWSKI, R.; SANTOS, L. R. D.; DO NASCIMENTO, V. P.; RODRIGUES, L. B. *Salmonella Enteritidis* forma biofilme sob baixas temperaturas em diferentes superfícies da indústria de alimentos. **Ciência Rural**, v. 49, n. 7, 2019.

WELLS, C. L.; HENRY-STANLEY, M. J.; BARNES, A. M.; DUNNY, G. M.; HESS, D. J. Relation between antibiotic susceptibility and ultrastructure of *Staphylococcus aureus* biofilms on surgical suture. **Surgical infections**, v. 12, n. 4, p. 297-305, 2011.

WESTALL, F.; DE WIT, M. J.; DANN, J.; VAN DER GAAST, S.; DE RONDE, C. E.; GERNEKE, D. Early Archean fossil bacteria and biofilms in hydrothermally-influenced sediments from the *Barberton greenstone belt*, South Africa. **Precambrian Research**, v. 106, n. 1-2, p. 93-116, 2001.

WHITELEY, M.; BANGERA, M. G.; BUMGARNER, R. E.; PARSEK, M. R.; TEITZEL, G. M.; LORY, S.; GREENBERG, E. P. Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Nature**, v. 413, n. 6858, p. 860-864, 2001.

WILLIAMSON, E. M. Synergy and other interactions in phytomedicines. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 401-409, 2001.

WONDRACK, L.; MASSA, M.; YANG, B. V.; SUTCLIFFE, J. Clinical strain of *Staphylococcus aureus* inactivates and causes efflux of macrolides. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 40, n. 4, p. 992-998, 1996.

WRIGHT, Gerard D. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. **Advanced drug delivery reviews**, v. 57, n. 10, p. 1451-1470, 2005.

WU, X.; KUBILAY, N. Z.; REN, J.; ALLEGRANZI, B.; BISCHOFF, P.; ZAYED, B.; PITTET, D.; LI, J. Antimicrobial-coated sutures to decrease surgical site infections: a systematic review and meta-analysis. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 36, n. 1, p. 19-32, 2017.

XU, J.; ZHOU, F.; JI, B. P.; PEI, R. S.; XU, N. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. **Letters in applied microbiology**, v. 47, n. 3, p. 174-179, 2008.

XU, S. G.; MAO, Z. G.; LIU, B. S.; ZHU, H. H.; PAN, H. L. Evaluating the use of antibiotic prophylaxis during open reduction and internal fixation surgery in patients at low risk of surgical site infection. **Injury**, v. 46, n. 2, p. 184-188, 2015.

XU, Z.; LIANG, Y.; LIN, S.; CHEN, D.; LI, B.; LI, L.; DENG, Y. Crystal violet and XTT assays on *Staphylococcus aureus* biofilm quantification. **Current microbiology**, v. 73, n. 4, p. 474-482, 2016.

YANG, Y.; ZHANG, Z.; LI, S.; YE, X.; LI, X.; HE, K. Synergy effects of herb extracts: pharmacokinetics and pharmacodynamic basis. **Fitoterapia**, v. 92, p. 133-147, 2014.

YE, L.; ZHANG, J.; XIAO, W.; LIU, S. Efficacy and mechanism of actions of natural antimicrobial drugs. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 216, p. 107671, 2020.

YIN, J.; SUN, Y.; SUN, Y.; YU, Z.; QIU, J.; GAO, H. Deletion of lytic transglycosylases increases beta-lactam resistance in *Shewanella oneidensis*. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 13, 2018.

ZATORSKI, C.; ZOCCHI, M.; COSGROVE, S. E.; RAND, C.; BROOKS, G.; MAY, L. A single center observational study on emergency department clinician non-adherence to clinical practice guidelines for treatment of uncomplicated urinary tract infections. **BMC infectious diseases**, v. 16, n. 1, p. 638, 2016.

ZERVOS, M. J.; HERSHBERGER, E.; NICOLAU, D. P.; RITCHIE, D. J.; BLACKNER, L. K.; COYLE, E. A.; DONNELLY, A. J.; ECKEL, S. F.; ENG, R. H. K.; HILTZ, A.; KUYUMIJAN, A. G.; KREBS, W.; MCDANIEL, A.; HOGAN, P.; LUBOWSKI, T. J. Relationship between fluoroquinolone use and changes in susceptibility to fluoroquinolones of selected pathogens in 10 United States teaching hospitals, 1991–2000. **Clinical Infectious Diseases**, v. 37, n. 12, p. 1643-1648, 2003.

ZHANG, H.; LUO, Y.; WU, L.; HUANG, Y.; CHISTIE, P. Residues and potential ecological risks of veterinary antibiotics in manures and composts associated with protected vegetable farming. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 8, p. 5908-5918, 2015.

ZHANG, J.; LI, W.; CHEN, J.; QI, W.; WANG, F.; ZHOU, Y. Impact of biofilm formation and detachment on the transmission of bacterial antibiotic resistance in drinking water distribution systems. **Chemosphere**, v. 203, p. 368-380, 2018.

ZIMMERLI, W., WIDMER, A. F., BLATTER, M., FREI, R., & OCHSNER, P. E. Role of rifampin for treatment of orthopedic implant–related staphylococcal infections: a randomized controlled trial. **Jama**, v. 279, n. 19, p. 1537-1541, 1998.

ZUMSTEIN, V.; BETSCHART, P.; ALBRICH, W. C.; BUHMANN, M. T.; REN, Q.; SCHMID, H. P.; ABT, D. Biofilm formation on ureteral stents-Incidence, clinical impact, and prevention. **Swiss medical weekly**, v. 147, n. 0506, 2017.