RESSALVA

Atendendo a solicitação do(a) autor(a), o texto completo desse trabalho será disponibilizado no repositório a partir de 31/07/2028.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

LUMA DE MELLO ARRUDA LAGE

ATIVIDADE ANTIBIOFILME DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Origanum majorana* L. SOBRE CEPAS DE *Acinetobacter baumannii, Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Psedomonas aeruginosa*, E AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS HaCaT

2026

LUMA DE MELLO ARRUDA LAGE

ATIVIDADE ANTIBIOFILME DO EXTRATO DE *Origanum majorana* L. SOBRE *Acinetobacter baumanni*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, E AVALIAÇÃO DE CITOTOXICIDADE EM CÉLULAS HaCat

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus São José dos Campos, como parte dos requisitos de Defesa no Mestrado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

Área: Microbiologia e Imunologia. Linha de pesquisa: Agentes Antimicrobianos e métodos de controle para infecções de interesse médico-odontológico.

Orientadora: Prof. Tit. Luciane Dias de Oliveira

São José dos Campos

2026

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2026]. Disponível em http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Lage, Luma de Mello Arruda
Atividade antibiofilme do extrato hidroalcoólico de Origanum majorana L. sobre cepas de Acinetobacter baumannii, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus e Psedomonas aeruginosa, e avaliação da citotoxicidade em células HaCaT / Luma de Mello Arruda Lage. - São José dos Campos : [s.n.], 2026.
62 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2026.
Orientadora: Luciane Dias de Oliveira.

1. Acinetobacter baumannii. 2. Pseudomonas aeruginosa. 3. Sthaphylococcus aureus. 4. Klebsiella pneumoniae. 5. Origanum majorana. I. Oliveira, Luciane Dias de, orient. II. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - UNESP. IV. Universidade Estadual Paulista (UNESP). V. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Profa. Leila Novaes e Diretoria Técnica de Informática - ICT/UNESP.
Renata Aparecida Couto Martins CRB-8/8376

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A resistência antimicrobiana é um importante desafio à saúde pública, impulsionando a busca por novas estratégias terapêuticas. O extrato hidroalcoólico de *Origanum majorana* apresentou atividade antibacteriana e antibiofilme frente a *A. baumannii, P. aeruginosa, K. pneumoniae* e *S. aureus*. A baixa citotoxicidade a 8,4 mg/mL reforça seu potencial como fonte de compostos bioativos para aplicações terapêuticas.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

Antimicrobial resistance is an important public health challenge, driving the search for new therapeutic strategies. The hydroalcoholic extract of Origanum majorana showed antibacterial and antibiofilm activity against A. baumannii, P. aeruginosa, K. pneumoniae and S. aureus. The low cytotoxicity at 8,4 mg/mL reinforces its potential as a source of bioactive compounds for therapeutic applications.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Tit. Luciane Dias de Oliveira (Orientadora)
Universidade Estadual Paulista (UNESP)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Porf. Dra. Vanessa Marques Meccatti-Domiciano
Universidade Estadual Paulista (UNESP)
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Jonatas Rafael de Oliveira
Universidade Anhembi Morumbi
Curso de Medicina

São José dos Campos, 31 de julho de 2026.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, primeiramente, a **Deus**, fonte inesgotável de força, sabedoria e proteção. Ao longo desta jornada, Sua presença foi meu sustento nos momentos de incerteza, cansaço e desafio. A Ele agradeço especialmente pelo cuidado constante em cada trajeto percorrido entre minha casa e a universidade, por me guardar em segurança e por me conceder a perseverança necessária para concluir mais esta etapa.

Ao meu marido **Fábio**, meu companheiro de vida e de sonhos, pelo apoio incondicional, pela compreensão diante das ausências e por assumir com amor e generosidade tantas responsabilidades enquanto eu me dedicava à pesquisa. Esta conquista também é sua.

Aos meus filhos **Liam e Nina**, razão maior de tudo o que faço. Dedico esta dissertação a vocês, com a esperança de que ela lhes mostre que os sonhos merecem ser perseguidos com coragem, dedicação e perseverança. Cada momento de ausência, cada saudade sentida e cada abraço adiado carregaram um propósito maior. Espero que, no futuro, possamos colher juntos os frutos desta caminhada e que vocês encontrem nesta trajetória a inspiração para acreditar que a educação é capaz de transformar vidas, abrir caminhos inimagináveis e conduzir a lugares que, muitas vezes, sequer ousamos sonhar.

À ***Josilene***, por todo cuidado, carinho e dedicação com meus filhos durante os momentos em que precisei estar distante. Sua ajuda foi fundamental para que eu pudesse seguir adiante com tranquilidade e confiança.

Aos meus pais **Maria Auxiliadora e Antônio Eduardo**, por terem me ensinado, desde muito cedo, que a educação é um dos mais valiosos patrimônios que alguém pode construir. Obrigada por me mostrarem, por meio do exemplo, a importância da responsabilidade, da disciplina, do comprometimento e da dedicação diante dos desafios e dos objetivos que escolhemos para nossas vidas.

À minha prima **Cláudia** e à sua família, por terem me acolhido com tanto carinho durante minha permanência em São José dos Campos. Obrigada por abrirem as portas de sua casa e, mais do que isso, por fazerem dela também a minha casa. O apoio, a generosidade, as conversas, os cuidados e o afeto que recebi ao longo dessa jornada foram fundamentais para tornar essa caminhada mais leve e especial. Estendo esta dedicação aos meus tios, tias e primos, que sempre acompanharam minha trajetória com incentivo, palavras de apoio e torcida sincera por cada conquista alcançada.

À minha orientadora, **Profª Tit. Luciane Dias de Oliveira**, minha sincera admiração e gratidão. Sua trajetória acadêmica e profissional sempre foi uma inspiração para mim. Obrigada pela confiança, pelos ensinamentos, pela orientação segura e pela capacidade singular de equilibrar amizade, acolhimento, exigência e excelência. Sua contribuição ultrapassa os limites desta dissertação e permanecerá como referência em minha formação acadêmica e docente.

Às minhas amigas e companheiras de laboratório **Lara, Tuana, Raquel, Letícia, Gabriela, Samsara, Michelle e Júlia** pela ajuda incansável, pelas trocas de conhecimento, pelo apoio nos experimentos, pelos momentos de descontração e pelas amizades construídas ao longo dessa caminhada. Os desafios da pesquisa tornam-se mais leves quando compartilhados com pessoas especiais.

Por fim, dedico este trabalho a todos aqueles que acreditam na ciência e na educação como instrumentos de transformação social. Que o conhecimento produzido por meio da pesquisa continue inspirando novas descobertas, formando profissionais comprometidos e contribuindo para a construção de uma sociedade mais justa, crítica e consciente.

Esta dissertação representa muito mais do que um título acadêmico. Ela simboliza uma trajetória construída com fé, amor, renúncias, aprendizado e a contribuição de inúmeras pessoas que caminharam ao meu lado. A todos vocês, minha eterna gratidão.

Agradecimentos

À Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP, em especial ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Campus de São José dos Campos, pela oportunidade de realização deste trabalho e pela formação acadêmica proporcionada ao longo desta trajetória.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal** (CASB), nas pessoas de seu coordenador, **Prof. Tit. Alexandre Luiz Souto Borges**, e de sua vice-coordenadora**, Profª. Tit. Juliana Campos Junqueira**, pela dedicação ao Programa, pelo suporte oferecido ao longo desta trajetória e pela contribuição para uma formação acadêmica e científica de excelência.

À minha orientadora, **Profª. Tit. Luciane Dias de Oliveira**, pela orientação, confiança e por todo o conhecimento compartilhado ao longo desta caminhada. Agradeço, especialmente, pela forma generosa e acolhedora com que me conduziu, pela disponibilidade, pelo incentivo constante e por acreditar em mim em cada etapa deste percurso. Sua contribuição ultrapassou os limites deste trabalho e tornou esta trajetória ainda mais significativa. Minha sincera gratidão pela oportunidade de aprender e crescer ao seu lado.

RESUMO

Lage LMA. Atividade antibiofilme do extrato hidroalcoólico de *Origanum majorana* L. sobre *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, e avaliação da citotoxicidade em células HaCaT [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2026.

O uso irracional e indiscriminado de antibióticos impacta diretamente no aumento da resistência microbiana, demandando urgência na investigação de novas estratégias terapêuticas baseadas em produtos naturais como a fitoterapia. Esta prática tem se mostrado uma alternativa significativa como agentes microbianos e o extrato hidroalcoólico de *Origanum majorana* L. (manjerona) tem apresentado algumas propriedades que o apontam como fitoterápico promissor. O objetivo deste estudo foi avaliar a ação e antibiofilme do extrato hidroalcoólico de manjerona sobre cepas-padrão de *Acinetobacter baumannii, Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, assim como avaliar sua citotoxicidade em cultura de queratinócitos humanos (HaCat). Para tanto, o extrato de foi preparado e caracterizado fitoquimicamente por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-DAD) e teor de fenóis e flavonóides determinados. A atividade antimicrobiana foi analisada pelo teste de microdiluição em caldo (CLSI M7-A9) para determinação da concentração bactericida mínima (CBM). A atividade antibiofilme do extrato foi avaliada pelo ensaio de MTT, considerando a inibição da formação de biofilme e a ação sobre biofilmes maduros, com tempo de exposição de 5 minutos, utilizando a CBM de 8 mg/mL, previamente determinada e suas variações, nas concentrações de 16 mg/mL e 33 mg/mL. Queratinócitos (HaCat) foram utilizados para avaliação de citotoxidade, por meio do teste colorimétrico Alamar-Blue. Os dados foram analisados por Anova One-way e Tukey e Dunn considerando o nível de significância ($p \geq 0,05$), de acordo com o teste de normalidade. O teor de sólidos solúveis foi quantificado em 38,3 mg/mL, a concentração de flavonóides foi 21,2 mg/mL, 3,5 mg/mL de fenóis e atividade antioxidante CE50=0,032 mg/mL. O extrato apresentou ação bactericida em todas as cepas testadas sendo a CBM de *S. aureus e P. aeruginosa*: 8,4 mg/mL; *K. pneumoniae:* 4,2 mg/mL, e *A. baumannii*: 2,1 mg/mL. Na análise antibiofilme o extrato apresentou inibição da formação de biofilme maior que 96% em todas as cepas testadas na concentração de 33,6 mg/mL. Quando testado em biofilmes formados após 48 horas o extrato apresentou redução de mais de 92% em todas as concentrações testadas (33,6 16,8 e 8,4 mg/mL) no tempo de 5 minutos. A avaliação da citotoxicidade revelou comportamento dose-dependente, destacando-se a concentração de 8,4 mg/mL, que associou baixa citotoxicidade em células HaCaT à expressiva atividade antimicrobiana e antibiofilme. Conclui-se que o extrato hidroalcoólico de manjerona apresentou atividade antibiofilme, de *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, além de demonstrar viabilidade celular em HaCaT.

Palavras-chave: *Acinetobacter baumannii; Pseudomonas aeruginosa; Sthaphylococcus aureus; Klebsiella pneumoniae; Origanum majorana*, biofilme.

ABSTRACT

Lage LMA. Antibiofilm activity of hydroalcoholic extract of marjoram on Acinetobacter baumannii, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa, and evaluation of cytotoxicity in HaCaT cells [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (UNESP), Institute of Science and Technology; 2026.

The irrational and indiscriminate use of antibiotics has a direct impact on the increase in microbial resistance, demanding urgency in the investigation of new therapeutic strategies based on natural products such as phytotherapy. This practice has been shown to be a significant alternative as microbial agents and the hydroalcoholic extract of marjoram has shown some properties that point to it as a promising herbal medicine. The aim of this study was to evaluate the action and antibiofilm of marjoram hydroalcoholic extract on standard strains of Acinetobacter baumannii, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa, as well as to evaluate its cytotoxicity in human keratinocyte culture (HaCat). For this purpose, the extract of O. majorana L. was prepared and phytochemically characterized by high performance liquid chromatography (HPLC-DAD) and determined phenol and flavonoid content. The antimicrobial activity was analyzed by the broth microdilution test (CLSI M7-A9) to determine the minimum bactericidal concentration (MBC). The antibiofilm activity of the extract was evaluated by the MTT assay, considering the inhibition of biofilm formation and the action on mature biofilms, with an exposure time of 5 minutes, using a previously determined 8,4 mg/mL MBC and its variations, at concentrations of 16,8 and 33,2 mg/mL. Keratinocytes (HaCat) were used to evaluate cytotoxicity using the Alamar-Blue colorimetric test. The data were analyzed by Anova One-way and Tukey and Dunn considering the level of significance (p≥0.05), according to the normality test. The soluble solids content was quantified at 38,3 mg/mL, the concentration of flavonoids was 21,2 mg/mL, 3.5 mg/mL of phenols and antioxidant activity EC50=0,032 mg/mL The extract showed bactericidal action in all strains tested, being the MMC of S. aureus and P. aeruginosa: 8,4 mg/mL; K. pneumoniae: 4,2 mg/mL, and A. baumannii: 2,1 mg/mL. In the antibiofilm analysis, the extract showed inhibition of biofilm formation greater than 96% in all strains tested at a concentration of 33 mg/mL. When tested on biofilms formed after 48 hours, the extract showed a reduction of more than 92% in all concentrations tested (33, 16 and 8 mg/mL) in the time of 5 minutes. The evaluation of cytotoxicity revealed a dose-dependent behavior, highlighting the concentration of 8,4 mg/mL, which associated low cytotoxicity in HaCaT cells with expressive antimicrobial and antibiofilm activity. It was concluded that the hydroalcoholic extract of O. majorana L. showed antibiofilm activity, A. baumannii, K. pneumoniae, P. aeruginosa and S. aureus, in addition to demonstrating biocompatibility in HaCaT cells.

Keywords: Acinetobacter baumannii; Pseudomonas aeruginosa; Sthaphylococcus aureus; Klebsiella pneumoniae; Origanum majorana, biofilm.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....12

2 REVISÃO DE LITERATURA.....15

2.1 Resistência antimicrobiana no contexto da saúde global.....15

2.2 Fitoterapia como alternativa terapêutica frente à resistência antimicrobiana.....22

2.3 Teste de viabilidade celular.....24

3 PROPOSIÇÃO.....26

3.1 Os objetivos específicos são:.....26

4 MATERIAL E MÉTODOS.....27

4.1 Produção do extrato vegetal.....27

4.1.1 Teor de sólidos solúveis.....28

4.1.2 Determinação de flavonóides totais.....28

4.1.3 Determinação de fenóis totais.....29

4.1.4 Análise da composição fitoquímica.....30

4.1.5 Determinação da atividade supressora de radicais livres do extrato hidroalcoólico de manjerona (atividade antioxidante).....30

4.2 Avaliação da atividade antimicrobiana e antibiofilme.....31

4.2.1 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato em culturas planctônicas.....31

4.2.2 Avaliação da ação antibiofilme dos grupos experimentais por meio da análise de MTT.....33

4.2.2.1 Inibição da formação do biofilme.....33

4.2.2.2 Avaliação da ação do extrato de manjerona em biofilmes formados 34

4.3 Avaliação da citotoxicidade do extrato hidralcoólico de manjerona....35

4.4 Análise Estatística 36

5 RESULTADO.....37

5.1 Determinação do teor de sólidos solúveis 37

5.2 Análise fitoquímica 37

5.2.1 Flavonóides totais do extrato de manjerona 37

5.2.2 Fenóis totais do extrato hidroalcoólico de manjerona 38

5.2.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).....39

5 .2.4 Atividade supressora de radicais livres do extrato de manjerona ...40

5.3 Atividade antimicrobiana e antibiofilme.....41

5.3.1 Determinação da CIM e CBM do extrato de manjerona 41

5.3.2 Avaliação da ação antibiofilme dos grupos experimentais por meio de análise de MTT 41

5.3.2.1 Avaliação da Inibição na Formação do Biofilme Bacteriano (IFBB)42

5.3.2.2 Controle de biofilme bacteriano formado (EBBF) 45

5.4 Citotoxicidade do extrato de manjerona em HaCaT.....49

6 DISCUSSÃO 51

7 CONCLUSÃO 57

REFERÊNCIAS.....58

1 INTRODUÇÃO

O aumento considerável do uso indiscriminado de antibióticos pela população mundial impacta na crescente resistência a antibioticoterapia disponível e demanda urgência no surgimento de novos medicamentos e terapias alternativas que sejam eficazes (Miller, Arias, 2024). A resistência antimicrobiana é uma ameaça à saúde pública, à medicina moderna e ao sucesso no desenvolvimento sustentável. Infecções relacionadas a cepas multirresistentes resultaram em um aumento significativo de doenças. Em 2019, aproximadamente 5 milhões de mortes foram associadas a infecções multirresistentes (Sati et al., 2025).

A resistência antimicrobiana é uma ameaça à capacidade de tratar doenças infecciosas comuns, um risco à saúde pública mundial e exige esforços para novos medicamentos e terapias complementares ou alternativas que superem este desafio. Em 2024 a OMS emitiu a lista de patógenos bacterianos prioritários separados em categorias de importância crítica, alta e média. A resistência desses agentes patogênicos se intensificou nos últimos anos, grande parte consequência do uso excessivo e inoportuno dos antimicrobianos. A lista abrange 15 famílias de bactérias resistentes aos antibióticos, dentre elas *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* (Sati et al., 2025).

As infecções nosocomiais são aquelas que aparecem e se desenvolvem no paciente após 48 horas da sua entrada no hospital e não causa primária da internação. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, mais de 1,4 milhões de pessoas no mundo sofrem com infecções adquiridas em ambiente hospitalar resultando no aumento do gasto da internação e prejuízo preocupante à saúde. As bactérias multirresistentes (MDRs) podem ser encontradas em 66,7% nestas infecções e o uso irracional de antibioticoterapia pode explicar esta alta prevalência. Entre as bactérias MDRs são encontradas *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* e espécies de *Pseudomonas* (Aminata et al., 2023).

Apesar do desenvolvimento de novos fármacos, a resistência microbiana cresce exponencialmente e novas espécies bacterianas se mostram multirresistentes a 3 ou mais classes de antimicrobianos. Bactérias pan-resistentes, aquelas não susceptíveis a todas as classes de antibióticos, já são relatadas na literatura e sua

existência exige que novos medicamentos sejam desenvolvidos. Contudo, o avanço na pesquisa de novos fármacos é lento e demanda tempo maior para conferir seguridade e eficácia, fomentando assim práticas terapêuticas não convencionais como a fitoterapia (Silva, Nogueira, 2021).

A fitoterapia é uma terapêutica milenar que se utiliza de plantas medicinais para tratamento e prevenção de doenças. Os produtos derivados de plantas podem ser usados como terapia complementar em casos de doenças agudas, para doenças crônicas de leve a moderada intensidade, e também no cuidado preventivo (Lopes et al., 2018). Visando motivar esta prática e novas pesquisas de plantas com potenciais medicinais, o Ministério da Saúde criou o RENISUS, Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS, que engloba 71 espécies de plantas com eficácia comprovada para tratar algumas doenças comuns no Brasil (Silva, Nogueira, 2021).

Origanum majorana L. também conhecida como manjerona é uma planta medicinal originária da região mediterrânea e suas propriedades terapêuticas são bastante exploradas na forma de chás e na aromaterapia como óleo essencial. A manjerona é usada na medicina marroquina como antigripal, antialérgico, contra infecções respiratórias, febre, hipertensão, reumatismo, para dor estomacal, cólicas menstruais e dores de cabeça. Suas características biológicas são justificadas pela sua rica composição fitoquímica e as investigações farmacológicas dos seus óleos essênciais e extratos têm demonstrado efeitos promissores no que se refere a sua ação antibacteriana (Bouyahya et al., 2021).

As plantas medicinais produzem uma ampla diversidade de metabólitos secundários com potencial antimicrobiano, incluindo polifenóis, terpenos, alcalóides e fenilpropanóides, os quais podem ser usados na forma de compostos isolados, extratos ou óleos essenciais. Entre os fitoquímicos mais estudados, polifenóis e terpenos destacam-se como os principais responsáveis pela ação antibacteriana com efeito relevante contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativa (Álvarez-Martínez et al., 2021). Neste contexto, os extratos hidroalcoólicos de plantas medicinais emergem como abordagem terapêutica promissora no enfrentamento às infecções bacterianas posicionando-se como agentes adjuvantes de elevado potencial antimicrobiano.

As células HaCaT consistem em uma linhagem de queratinócitos humanos imortalizados amplamente empregada em estudos de viabilidade celular e

citotoxicidade de materiais odontológicos. Essas células são consideradas substitutas adequadas dos queratinócitos orais por apresentarem características biológicas semelhantes às observadas na mucosa oral, além de elevada estabilidade fenotípica, facilidade de cultivo e capacidade de manutenção contínua em cultura celular. Dessa forma, queratinócitos humanos, incluindo a linhagem HaCaT, têm sido frequentemente utilizados na avaliação biológica de substâncias com potencial contato direto com os tecidos epiteliais da cavidade oral.(Moharamzadeh et al., 2007).

Estudos experimentais têm demonstrado a expressiva atividade antibacteriana dos extratos de manjerona evidenciando seu papel como fontes de agentes antimicrobianos de origem vegetal. Diferentes solventes de extração, incluindo éter de petróleo, metanol, misturas hidroalcoólicas e diclorometano, têm se mostrado eficazes na obtenção de compostos bioativos com ação frente a bactérias como *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (Bouyahya et al., 2021). Esses achados reforçam a importância de estudos fitoquímicos e microbiológicos sobre os fatores de virulência bacteriana e os biofilmes, bem como sustentam a relevância de investigações acerca do potencial de seus extratos, especialmente no contexto do enfrentamento da resistência antimicrobiana.

7 CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados, é possível concluir que:

1. O extrato hidroalcoólico de manjerona apresentou composição rica em compostos fenólicos e flavonoides, além de relevante atividade antioxidante, evidenciada por sua capacidade de neutralização de radicais livres;
2. O extrato demonstrou atividade bactericida frente às cepas de *A. baumannii*,

S. aureus, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*, confirmando seu potencial antimicrobiano contra patógenos de elevada relevância clínica;

3. O extrato apresentou atividade antibiofilme significante na inibição da formação de biofilmes bacterianos e reduzir a viabilidade de biofilmes maduros das espécies avaliadas após 5 minutos de exposição, evidenciando expressiva atividade antibiofilme;
4. A concentração de 8,4 mg/mL apresentou o perfil biológico mais favorável, associando elevada atividade antimicrobiana e antibiofilme sendo biocompatível em células HaCaT;
5. A resposta citotóxica apresentou comportamento dose-dependente, caracterizado pela redução progressiva da viabilidade celular com o aumento da concentração do extrato.

REFERÊNCIAS

Ahmad-Mansour N, Loubet P, Pouget C, Dunyach-Remy C, Sotto A, Lavigne JP, et al. Staphylococcus aureus toxins: an update on their pathogenic properties and potential treatments. Toxins. 2021;13(10). doi: 10.3390/toxins13100677.

Al Rugaie O, Abdulbaqi MR, Danial AW, Mohammed HA, Alsharidah M, Tawfeek HM, et al. Potential application of *Origanum majorana* stabilized silver nanoparticles for coating of urinary catheter. Drug Des Devel Ther. 2025;19:2941-57. doi: 10.2147/DDDT.S512320.

Alibi S, Ben Selma W, Ramos-Vivas J, Smach MA, Touati R, Boukadida J, et al. Anti-oxidant, antibacterial, anti-biofilm, and anti-quorum sensing activities of four essential oils against multidrug-resistant bacterial clinical isolates. Curr Res Transl Med. 2020;68(2):59-66. doi: 10.1016/j.retram.2020.01.001.

Álvarez-Martínez FJ, Barrajón-Catalán E, Herranz-López M, Micol V. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: an updated review on their effects and putative mechanisms of action. Phytomedicine. 2021;90:153626. doi: 10.1016/j.phymed.2021.153626.

Aminata, M., Alioune, B. S., Yacouba, C., Agaly, D. O., Diarra Bassirou, Abdoulaye, T., Mamadou, C. D., Drissa, K., Lobogal, D., Djaminatou, C., Youssouf, C., Izetiégouma, M. I., & Bocar, F. D. (2023). Multidrug resistant bacteria isolated from nosocomial infections at University Teaching Hospital of Point-G, Bamako, Mali. *African journal of bacteriology research : JBR*, *15*(1), 39116BE70184.

Antonio, G. D.; Tesser, C. D.; Moretti-pires, R. O. Phytotherapy in primary health care. *Revista de Saúde Pública*, v. 48, n. 3, p. 541-553, 2014. DOI: 10.1590/S0034-8910.2014048004985.

Aslam B, Wang W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S, Rasool MH, et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. Infect Drug Resist. 2018;11:1645-58. doi: 10.2147/IDR.S173867.

Beceren A, Hazar-Yavuz AN, Bingol Ozakpinar O, Taskin D, Senkardes İ, Taskin T, et al. Toxicological assessment of *Origanum majorana* L.: evaluation of its cytotoxicity, genotoxicity, and acute oral toxicity. Int J Mol Sci. 2025;26(19). doi: 10.3390/ijms26199461.

Bouyahya A, Chamkhi I, Benali T, Guaouguaou FE, Balahbib A, El Omari N, et al. Traditional use, phytochemistry, toxicology, and pharmacology of *Origanum majorana* L. J Ethnopharmacol. 2021;265:113318. doi: 10.1016/j.jep.2020.113318.

Campos JCD, Antunes LCM, Ferreira RBR. Global priority pathogens: virulence, antimicrobial resistance and prospective treatment options. Future Microbiol. 2020;15(8). doi: 10.2217/fmb-2019-0333.

Cheung GYC, Bae JS, Otto M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. Virulence. 2021;12(1):547-69. doi: 10.1080/21505594.2021.1878688.

Dolan SK. Current knowledge and future directions in developing strategies to combat *Pseudomonas aeruginosa* infection. J Mol Biol. 2020;432(20):5509-28. doi: 10.1016/j.jmb.2020.07.021.

Elbehiry A, Abalkhail A, Anajirih N, Alkhamisi F, Aldamegh M, Alramzi A, et al. *Helicobacter pylori*: routes of infection, antimicrobial resistance, and alternative therapies as a means to develop infection control. Diseases. 2024;12(12). doi: 10.3390/diseases12120311.

Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life. Nat Rev Microbiol. 2016;14:563-75. doi: 10.1038/nrmicro.2016.94.

Ghazal TSA, Schelz Z, Vidács L, Szemerédi N, Veres K, Spengler G, et al. Antimicrobial, multidrug resistance reversal and biofilm formation inhibitory effect of *Origanum majorana* extracts, essential oil and monoterpenes. Plants. 2022;11(11). doi: 10.3390/plants11111432.

Gök HN, Luca SV, Ay ST, Komsta Ł, Salmas RE, Orhan IE, et al. Profiling the annual change of the neurobiological and antioxidant effects of five *Origanum* species in correlation with their phytochemical composition. Food Chem. 2022;368:130775. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130775.

Gomes F, Dias MI, Lima Â, Barros L, Rodrigues ME, Ferreira ICFR, et al. *Satureja montana* L. and *Origanum majorana* L. decoctions: antimicrobial activity, mode of action and phenolic characterization. Antibiotics (Basel). 2020;9(6):294. doi: 10.3390/antibiotics9060294.

Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. Front Cell Infect Microbiol. 2020;10. doi: 10.3389/fcimb.2020.00107.

Ibrahim S, Al-Saryi N, Al-Kadmy IMS, Aziz SN. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* as an emerging concern in hospitals. Mol Biol Rep. 2021;48(10):6987-98. doi: 10.1007/s11033-021-06690-6.

Jurado-Martín I, Sainz-Mejías M, McClean S. *Pseudomonas aeruginosa*: an audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors. Int J Mol Sci. 2021;22(6):1-37. doi: 10.3390/ijms22063128.

Kaushik S. Editorial: reviews in antibiotic resistance and new antimicrobial drugs. Front Cell Infect Microbiol. 2024;14. doi: 10.3389/fcimb.2024.1434140.

Kincses A, Ghazal TSA, Veres K, Spengler G, Hohmann J. Phenolic compounds from *Origanum majorana* with biofilm-inhibitory activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains. Pharm Biol. 2025;63(1):402-10. doi: 10.1080/13880209.2025.2511805.

Kumar N, Goel N. Phenolic acids: natural versatile molecules with promising therapeutic applications. Biotechnol Rep (Amst). 2019;24:e00370. doi: 10.1016/j.btre.2019.e00370.

Lagha R, Ben Abdallah F, Al-Sarhan BO, Al-Sodany Y. Antibacterial and biofilm inhibitory activity of medicinal plant essential oils against *Escherichia coli* isolated from UTI patients. Molecules. 2019;24(6):1161. doi: 10.3390/molecules24061161.

Lei TY, Liao BB, Yang LR, Wang Y, Chen XB. Hypervirulent and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a global public health threat. Microbiol Res. 2024;288:127839. doi: 10.1016/j.micres.2024.127839.

Li D, Huang X, Rao H, Yu H, Long S, Li Y, et al. *Klebsiella pneumoniae* bacteremia mortality: a systematic review and meta-analysis. Front Cell Infect Microbiol. 2023;13. doi: 10.3389/fcimb.2023.1157010.

Liu HY, Prentice EL, Webber MA. Mechanisms of antimicrobial resistance in biofilms. NPJ Antimicrob Resist. 2024;2(1). doi: 10.1038/s44259-024-00046-3.

Lopes CMC, Lazzarini JR, Soares JM, Baracat EC. Phytotherapy: yesterday, today, and forever? Rev Assoc Med Bras. 2018;64(9):765-8. doi: 10.1590/1806-9282.64.09.765.

Loukili EH, Ou-Yahia D, Zeouk I, Ramdani M. Exploring the antimicrobial potential of plant extracts: advantages and challenges. Mor J Chem. 2025;13(2):881-902. doi: 10.48317/IMIST.PRSM/morjchem-v13i2.50288.

Mahdally NH, Salih AEM, El-Shiekh RA, et al. Exploring the antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. against the highly virulent multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* AB5075: UPLC-HRMS profiling with in vitro and in silico studies. Futur J Pharm Sci. 2024;10:71. doi: 10.1186/s43094-024-00641-1.

Miller WR, Arias CA. ESKAPE pathogens: antimicrobial resistance, epidemiology, clinical impact and therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2024;22(10):598-616. doi: 10.1038/s41579-024-01054-w.

Moharamzadeh K, Van Noort R, Brook IM, Scutt AM. Cytotoxicity of resin monomers on human gingival fibroblasts and HaCaT keratinocytes. Dent Mater. 2007;23(1):40-4. doi: 10.1016/j.dental.2005.11.039.

Moharamzadeh K, Brook IM, Scutt AM, Thornhill MH, Van Noort R. Mucotoxicity of dental composite resins on a tissue-engineered human oral mucosal model. J Dent. 2008;36(5):331-6. doi: 10.1016/j.jdent.2008.01.019.

Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. Lancet. 2022;399(10325):629-655. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.

Murray PE, García-Godoy C, García-Godoy F. How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2007;12:E258-66.

Paudel PN, Satyal P, Satyal R, Setzer WN, Gyawali R. Chemical composition, enantiomeric distribution, antimicrobial and antioxidant activities of *Origanum majorana* L. essential oil from Nepal. Molecules. 2022;27(18):6136. doi: 10.3390/molecules27186136.

Peeters E, Nelis HJ, Coenye T. Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. J Microbiol Methods. 2008;72(2):157-65. doi: 10.1016/j.mimet.2007.11.010.

Qureshi KA, Fahmy NA, Parvez A, Almahasheer H, Permatasari D, Jaremko M, et al. Biofilms and antimicrobial resistance: mechanisms, clinical implications, and emerging interventions. Chem Biodivers. 2025. doi: 10.1002/cbdv.202501351.

Rodrigues JSSP, Cipriano THAS, Vasconcelos JMPBL, Bezerra AA, Pereira ES, Araújo LCA, et al. Effects of herbal medicines in combating antimicrobial resistance and its impacts on public health. Braz J Biol. 2025;85:e291632. doi: 10.1590/1519-6984.291632.

Sati H, Carrara E, Savoldi A, Hansen P, Garlasco J, Campagnaro E, et al. The WHO Bacterial Priority Pathogens List 2024: a prioritisation study to guide research, development, and public health strategies against antimicrobial resistance. Lancet Infect Dis. 2025;25(9):1033-43. doi: 10.1016/S1473-3099(25)00118-5.

Silva LOP da, Nogueira JM da R. Resistência bacteriana: potencial de plantas medicinais como alternativa para antimicrobianos. Rev Bras Anal Clin. 2021;53(1). doi: 10.21877/2448-3877.202002033.

Singha B, Singh V, Soni V. Alternative therapeutics to control antimicrobial resistance: a general perspective. Front Drug Discov. 2024;4. doi: 10.3389/fddsv.2024.1385460.

Tiku V. *Acinetobacter baumannii*: virulence strategies and host defense mechanisms. DNA Cell Biol. 2022;41(1):43-8. doi: 10.1089/dna.2021.0588.

Tolmasky ME. Carbapenemases: transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace. Biomolecules. 2020;10(5). doi: 10.3390/biom10050720.

Tzimas K, Antoniadou M, Varzakas T, Voidarou C. Plant-derived compounds: a promising tool for dental caries prevention. Curr Issues Mol Biol. 2024;46:5257-90. doi: 10.3390/cimb46060315.

Vlaeminck J, Raafat D, Surmann K, Timbermont L, Normann N, Sellman B, et al. Exploring virulence factors and alternative therapies against *Staphylococcus aureus* pneumonia. Toxins. 2020;12(11). doi: 10.3390/toxins12110721.

Yan R, Lu Y, Zhu Y, Lan P, Jiang S, Lu J, et al. A sequence type 23 hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strain presenting carbapenem resistance by acquiring an

IncP1 blaKPC-2 plasmid. Front Cell Infect Microbiol. 2021;11. doi: 10.3389/fcimb.2021.641830.