

Universidade Brasil
Campus de Fernandópolis

GLAUCIMEIRE RODRIGUES DE ANDRADE

**EFICÁCIA DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE *in vitro* DE
*Acinetobacter baumannii***

**MEDICINAL PLANT EFFICIENCY *in vitro* CONTROL THE
*Acinetobacterbaumannii***

Fernandópolis - SP
2016

GLAUCIMEIRE RODRIGUES DE ANDRADE

EFICÁCIA DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE *in vitro* DE *Acinetobacter baumannii*

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Dora Inês Kozusny-Andreani

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Fernandópolis-SP

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

A567e Andrade, Glaucimeire Rodrigues de
Eficácia de plantas medicinais no controle in vitro de
Acinetobacter baumannii / Glaucimeire Rodrigues de Andra-
de. – Fernandópolis, 2016.
70 f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Ambientais, da Universida-
de Brasil, como complementação dos créditos necessários
para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientadora: Profª Drª Dora Inês Kozusny-Andreani

1. Antimicrobianos. 2. Bactéria multirresistente. 3. Doen-
ças infecciosas. 4. Plantas medicinais I. Título.

CDD 615.321

Termo de Autorização

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

Título do Trabalho: **"EFICÁCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE *in vitro* DE *Acinetobacter baumannii*"**

Autor(es):

Discente: Glauceire Rodrigues de Andrade

Assinatura: _____

Orientador: Dora Inés Kozusny-Andreani

Assinatura: _____

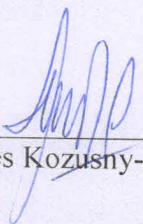
Data: 19/dezembro/2016

TERMO DE APROVAÇÃO

GLAUCIMEIRE RODRIGUES DE ANDRADE

EFICÁCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CONTROLE *in vitro* DE *Acinetobacter baumannii*.

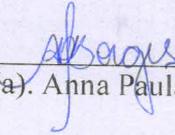
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:



Prof(a). Dr(a) Dora Inés Kozusny-Andreani (Presidente)



Prof(a). Dr(a). Liandra Maria Abaker Bertipaglia



Prof(a). Dr(a). Anna Paula de Sá Borges

São Paulo, 19 de dezembro de 2016.

Presidente da Banca Prof(a). Dr(a). Dora Inés Kozusny-Andreani

AGRADECIMENTOS

Pai nosso que estais em mim, nas flores, no canto dos pássaros, na compaixão. Obrigada por ser amoroso comigo.

Ao Dr. Hélio Lopes Silveira, Médico Pediatra, então Diretor do Hospital de Clínicas de Uberlândia, obrigada por ser a pessoa humana e competente... Serei eternamente grata.

À minha orientadora, Prof^a. Dra. Dora Inez Kozusny- Andreani a quem admiro e respeito. Trilhei o bom caminho com sua ajuda!

Aos colegas de sala da pós-graduação, pelas experiências adquiridas; a turma do Campus Santa Monica, sempre presentes em todas as aulas.

Adélia, Martha, Leila, Ibis pelas idas e vindas no trajeto de Uberlândia-MG, a Fernandópolis- SP. Elevamos nossa capacidade de conviver com as diferenças!!!

Às companheiras de trabalho do Serviço Social do hospital onde trabalho, que direta ou indiretamente acompanharam esta jornada e puderam colaborar de uma forma ou de outra. Sei que cada um fez o que pode! Roberta, te agradeço imensamente.

À Coordenadora da micro-biologia do laboratório do hospital, Mestra Viviane, pela confiança e ajuda imprescindível, para o sucesso desta pesquisa.

À técnica em Microbiologia Glisely. Obrigada por repassar seus conhecimentos aos alunos com tanto empenho.

À companheira Silmara Ribeiro Gonçalves, que fizemos vínculos há tempos atrás. Obrigada pela disposição de sempre.

Ao Coordenador do Mestrado em Ciências Ambientais.

Obrigada aos componentes das bancas de qualificação e apresentação da Dissertação.

Dedico este trabalho aos meus descendentes, Lúcio Antonio Lelis Ferreira Filho, Lélia Lelis Abreu, Eliza Abreu. Em vocês busco forças para nunca desistir.

EFICÁCIA DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE *in vitro* DE *Acinetobacter baumannii*

RESUMO

A bactéria *Acinetobacter baumannii* embora prevalente na natureza é considerado como comensal da pele humana e do trato respiratório. *Acinetobacter baumannii* emergiu como um patógeno clinicamente importante devido ao número crescente de infecções produzidas por este organismo e à disseminação global de estirpes com resistência a várias classes de antibióticos. A mesma tem a capacidade de sobreviver por longos períodos em ambientes hospitalares, com capacidade de aderência a diferentes superfícies pela formação de biofilmes potencializando a sua capacidade de disseminação nosocomial. Encontra-se associada a doenças infecciosas graves, tais como pneumonia, infecção do trato urinário, endocardite, infecção em feridas, meningite e septicemia. Como esta espécie bacteriana é resistente à maioria dos antimicrobianos implicando um amplo risco para saúde e, por tanto, se constituem em um desafio para o tratamento de indivíduos acometidos. A relevância do *Acinetobacter baumannii*, como um micro-organismo problemático em instalações hospitalares, particularmente em unidades de cuidados intensivos, tem aumentado ao longo do tempo. O tratamento das infecções causadas por *Acinetobacter baumannii* é realizado com antimicrobianos e face ao seu uso indiscriminado, leva, conseqüentemente às falhas terapêuticas e remissão da infecção. Objetivou-se no presente trabalho avaliar os efeitos antimicrobianos intrínsecos de óleos essenciais sobre linhagem de *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978. Foram empregados os óleos essenciais de alecrim, artemísia, canela, cânfora, citronela, cravo da Índia, eucalipto globulus, eucalipto staigeriana, eucalipto citriodora, melaleuca, menta, orégano e salvia em concentrações que variaram de 0 a 100%. A atividade antibacteriana foi determinada pelo método da microdiluição em placas e pela cinética bactericida dos óleos essenciais. Verificou-se que todos os óleos apresentaram atividade antibacteriana contra *Acinetobacter baumannii*. Os óleos de citronela, de eucalipto staigeriana e de menta apresentaram menor concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima, sendo neste estudo, os mais eficazes. Os óleos de orégano, de melaleuca e de cravo da Índia

apresentaram maior taxa de morte bacteriana, e anularam a carga microbiana de *Acinetobacter baumannii* em até 60 minutos.

Palavras-chave: antimicrobianos, bactéria multirresistente, doenças infecciosas, plantas medicinais

MEDICINAL PLANT EFFICIENCY *in vitro* CONTROL THE *Acinetobacter baumannii*

ABSTRACT

Although the bacterium *Acinetobacter baumannii* is common in nature, it is considered human skin and respiratory tract commensal. *Acinetobacter baumannii* emerged as a clinically important pathogen due to the increasing number of infections produced by this organism and the global spread of strains resistant to various classes of antibiotics. The bacterium has the capacity to survive for long periods in hospital environments, with ability to adhere to different surfaces by the formation of biofilms, which enhances its capacity for nosocomial dissemination. It is associated with serious infectious diseases such as pneumonia, urinary tract infection, endocarditis, wound infection, meningitis and septicemia. This bacterial species is resistant to most of the antimicrobials, implying an ample risk to health and, therefore, it constitutes a challenge for the treatment of affected individuals. The relevance of *Acinetobacter baumannii* as a problematic microorganism in hospital settings, particularly in intensive care units, has increased over time. The infections caused by *Acinetobacter baumannii* are treated with antimicrobials and, because of their indiscriminate use; it can lead to therapeutic failures and remission of the infection. The present study aimed to evaluate the intrinsic antimicrobial activity of essential oils on the *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 line. We used essential oil of rosemary, artemisia, cinnamon, camphor, citronella, Indian clove, eucalyptus globulus, eucalyptus staguian, eucalyptus citriodora, tea tree, mint, oregano and sage, in concentrations that ranged from 0 to 100%. The antibacterial activity was determined through the broth microdilution method and through bactericidal kinetics of essential oils. All the oils performed antibacterial activity against *Acinetobacter baumannii*. Citronella, staguiana eucalyptus and mint oils presented lower minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration, being the most efficient in this study. Oregano, tea tree and Indian clove oils presented higher bacterial death rate, and they canceled the microbial load of *A. baumannii* in up to 60 minutes.

Key words:antimicrobials, infectious diseases,medicinal plants,multi-resistant bacteria.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Alecrim).....	22
Figura 2: <i>Eugenia caryophyllata</i> Thunberg. – Myrtaceae (Cravo).....	23
Figura 3: <i>Melaleuca alternifolia</i> Cheel. – Myrtaceae (Malaleuca).....	24
Figura 4: <i>Origanum vulgare</i> L. (Orégano).....	26
Figura 5: <i>Artemisia absinthium</i> L. (Artemísia).....	27
Figura 6: <i>Cinnamomum Camphora</i> (Canfora).....	28
Figura 7: <i>Eucalyptus Globulus Leaf Oil</i> (Eucalipto <i>globulus</i>).....	29
Figura 8: <i>Cinnamomum Zeylanicum</i> Breyn (Canela).....	30
Figura 9: <i>Sálvia Oficinallis</i> (Sálvia).....	31
Figura 10: <i>Cymbopogon winterianus</i> (Citronela).....	32
Figura 11: <i>Mentha piperita</i> (Hortelã-Pimenta).....	33
Figura 12: Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais mais eficazes.	42
Figura 13: Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais mais eficazes, excluindo a concentração inicial de 0,0 %.....	43
Figura 14: Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais menos eficazes.	43
Figura 15: Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais menos eficazes, excluindo a concentração de 0,0 %.....	44
Figura 16: Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (mais eficazes).....	44
Figura 17: Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (mais eficazes), excluindo a concentração de 0,0%.	45
Figura 18: Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (menos eficazes).	45
Figura 19: Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (menos eficazes), excluindo a concentração de 0,0%.....	46
Figura 20: Variação percentual da contagem microbiana dos óleos essenciais estudados.....	48

Figura 21: Variação percentual da contagem microbiana dos óleos essenciais estudados.....	49
Figura 22: Variação da contagem microbiana para os óleos essenciais mais eficazes.....	50
Figura 23: Perfil da variação da contagem microbiana em relação aos tempos avaliados.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Nomes vulgar e científico das plantas medicinais e características dos óleos essenciais	37
Tabela 2: Médias da contagem microbiana para cada uma das concentrações avaliadas	41
Tabela 3: Estatísticas descritivas da variação percentual (%) da contagem microbiana em relação aos extratos vegetais avaliados	47
Tabela 4: Médias da contagem de <i>Acinetobacter baumannii</i> para os tempos avaliados utilizando a CBM de cada óleo essencial.....	51
Tabela 5: Estatísticas descritivas da variação percentual (%) da contagem de <i>A. baumannii</i> em relação aos tempos de análise	52

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
CCIH	Comissões de Infecção Hospitalar
IACS	Infecções Causadas nos Serviços de Saúde
IH	Infecção Hospitalar
ILPI	Instituições de Longa Permanência
ITU	Infecção do Trato Urinário
MINSAL	Sistema de Vigilância Epidemiológica Nacional do Ministério da Saúde
MS	Ministério da Saúde
OE	Óleos Essenciais
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PAV	Pneumonia associada à ventilação mecânica
SIDA	Síndrome da Imundeficiência Adquirida
SIRS	Síndrome da resposta inflamatória
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Relevância do tema	17
1.2.1. <i>Acinetobacter Baumannii</i>	20
1.2.2. Plantas medicinais e aromáticas.....	22
1.2.2.1. <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Alecrim).....	22
1.2.2.2. <i>Eugenia caryophyllata</i> Thunberg – Myrtaceae (Cravo).....	22
1.2.2.3. <i>Melaleuca alternifolia</i> Cheel. – Myrtaceae (Melaleuca).....	24
1.2.2.4. <i>Origanum vulgare</i> L. (Orégano)	25
1.2.2.5. <i>Artemisia absinthium</i> L. (Artemísia)	26
1.2.2.6. <i>Cinnamomum camphora</i> (Cânfora).....	27
1.2.2.7. <i>Eucalyptus</i>	28
1.2.2.8. <i>Cinnamomum Zeylanicum</i> Breyn (Canela)	29
1.2.2.9. <i>Sálvia officinallis</i> (Sálvia)	30
1.2.2.10. <i>Cymbopogon winterianus</i> (Citronela).....	31
1.2.2.11. <i>Mentha piperita</i> (Hortelã-pimenta)	32
1.2.3. Óleos essenciais.....	33
1.4. Objetivos	34
2. MATERIAL E MÉTODOS	35
2.1. Linhagem bacteriana e meios de cultivo	35
2.2. Óleos essenciais	35
2.3. Teste de esterilidade do óleo essencial	36
2.4. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM).....	Erro! Indicador não definido.
2.5. Cinética bactericida dos óleos essenciais.....	38
2.6. Análise estatística	38
3. RESULTADOS	40
4. DISCUSSÃO	54
5. CONCLUSÃO.....	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

1. INTRODUÇÃO

1.1. Relevância do tema

O gênero *Acinetobacter* é um bacilo gram-negativo, ubiqüitário, aeróbio estrito, não fermentador, pouco exigente, imóvel, catalase positiva, oxidase negativa, possui habilidade de crescer em diversas condições de pH e temperatura e utiliza tipos diferentes de substratos para seu desenvolvimento [1,2]. Os fatores de virulência que permitem a sobrevivência e adaptação do referido agente ao ambiente hospitalar incluem: a habilidade em captar o ferro do meio ambiente sobrevivendo assim em condições de déficit de ferro, resistência à desidratação, produção de uma cápsula polissacarídica em algumas estirpes, capacidade de aderência a diferentes superfícies pela formação de biofilmes [3,4] e aderência às células do epitélio respiratório por meio de pili[5].

A capacidade do *Acinetobacter baumannii* de aderir e de formar biofilmes em objetos inanimados e superfícies pode explicar a sua permanência no ambiente hospitalar. A estrutura do biofilme formado por essa bactéria patogênica também aumenta a sua capacidade de resistir a tratamentos antimicrobianos, bem como outros estresses ambientais e à disponibilidade limitada de nutrientes[6-9].

Acinetobacter baumannii emergiu como um patógeno clinicamente importante devido ao número crescente de infecções produzidas por esse organismo e à disseminação global de estirpes com resistência a várias classes de antibióticos [10]. O *Acinetobacter baumannii* é um micro-organismo comensal da microbiota cutânea que apresenta maior taxa de colonização da pele e do epitélio respiratório nos indivíduos hospitalizados. Os doentes portadores desse agente apresentam um papel preponderante na contaminação das mãos dos profissionais de saúde e dos equipamentos hospitalares, contribuindo, assim, para a perpetuação de surtos por essa espécie bacteriana. Além da transmissão cutânea, também tem sido descritas contaminações por via aérea e digestiva por meio de aerossóis, expectoração e fezes [11-13].

A aquisição de mecanismos de resistência aos antimicrobianos e aos desinfetantes, assim como sua capacidade de sobreviver no meio hospitalar, permite a persistência de *Acinetobacter baumannii*. A exposição contínua e, por

vezes,exagerada os antibióticos de amplo espectro faz com que haja uma pressão seletiva sobre o *Acinetobacter baumannii* promovendo a sobrevivência de estirpes mais resistentes e a disseminação de mecanismos de resistência entre bactérias diferentes. Portanto, deve ser fundamental a utilização criteriosa de antibióticos utilizando esquemas terapêuticos combinados de modo a prevenir o aparecimento de resistências [1,10].

As bactérias infecciosas resistentes aos antibióticos, atualmente, implicam um alto risco e, portanto, constituem um forte desafio ao tratar pacientes em ambientes hospitalares. A caracterização dessas espécies e de estirpes particulares é uma prioridade para o estabelecimento de testes diagnósticos e procedimentos preventivos. A relevância de *Acinetobacter baumannii* como micro-organismo problemático em instalações hospitalares, particularmente unidades de terapia intensiva, aumentou ao longo do tempo [14].

O desenvolvimento da resistência de bactérias patogênicas aos antibióticos exigiu a busca de novas substâncias antimicrobianas de outras fontes, incluindo plantas. Os extratos e os óleos essenciais obtidos a partir de muitas plantas aromáticas e medicinais apresentam atividades biológicas importantes no controle de patógenos [15,16,9]. Os efeitos antimicrobianos de óleos essenciais são amplos, podendo agir como antibacteriano, antifúngico, antiparasitário, antioxidante, antiviral, anticancerígeno entre outros. Contudo, a informação sobre bioatividade e toxicidade dos óleos essenciais não são extensivamente estudadas. Apesar disso, o uso comercial e as aplicações de óleos essenciais continuam a crescer, e são usados em produtos de limpeza domésticos, cosméticos, perfumaria, inseticidas, desinfetantes, na gestão de infecções em animais e humanas [17,18].

Os mecanismos de ação dos compostos naturais sobre as bactérias estão relacionados à desintegração da membrana citoplasmática, desestabilização da força motora do próton (PMF), fluxo de elétrons, transporte ativo e coagulação do conteúdo celular. Nem todos os mecanismos de ação incidem em alvos específicos, e alguns sítios podem ser afetados devido a outros mecanismos ainda não determinados. Os óleos essenciais são conhecidos por terem um forte potencial antibacteriano e essa atividade biológica é, principalmente devido, à sua composição, incluindo compostos aromáticos e terpênicos [19,20]. Segundo Saviucet al. [21], alguns compostos naturais, entre eles o 1,8-cineol (eucaliptol), agem

induzindo a atividade de inibição da permeabilização das paredes celulares e das bombas de efluxo, sugerindo seu uso potencial para a restauração da eficiência de antibióticos em cepas resistentes portadoras de um mecanismo de efluxo.

Embora as propriedades biológicas dos óleos essenciais se encontrem estreitamente relacionadas com seus principais componentes, a amplitude dos seus efeitos pode ser atribuída à sua elevada concentração no óleo original, mascarando os efeitos de componentes menores ou quando a concentração é elevada. Assim, as funções interativas dos vários componentes contidos num óleo essencial, em comparação com a ação de um ou dois componentes principais do óleo, parecem não ter sido resolvidas. Portanto, os óleos essenciais inteiros exercem maior atividade antibacteriana em comparação com os principais componentes utilizados individualmente[22].

Devido à importância de *Acinetobacter baumannii* como agente etiológico de infecções nosocomiais significativas a multirresistência a diferentes antibióticos, foram realizadas pesquisas para avaliar a eficácia de óleos essenciais no controle dessa bactéria[9,15,18,23,24,25,26,27,28]. A esse respeito, objetivou-se, no presente trabalho, avaliar os efeitos antimicrobianos intrínsecos de óleos essenciais sobre linhagem de *Acinetobacterbaumannii*ATCC 17978.

1.2. Fundamentação

1.2.1. *Acinetobacter Baumannii*

A *Acinetobacter Baumannii* é um cocobacilo nosocomial gram-negativo, multirresistente a inúmeras drogas, aeróbio restrito, destacando-se como patógeno hospitalar grave, oportunista [29]. O patógeno pode estar presente em ambientes naturais e hospitalares do mundo. É identificada como bactéria de grande importância clínica, causadora de surtos com imensa capacidade de infecção no âmbito hospitalar e resistência para sobreviver em quaisquer superfícies ambientais. Diante do perfil de alta patogenicidade, um tratamento hospitalar onde a *Acinetobacterbaumanni* esteja envolvida, os custos podem ser onerados em até três vezes se comparados ao valor de uma internação sem infecção [30].

Essa bactéria oportunista possui baixa virulência em indivíduos saudáveis, causando danos em pacientes em estado crítico ou imunocomprometidos comumente internados nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI). São capazes de sobreviver em quaisquer superfícies ambientais, perdurando naturalmente na microbiota da pele e pelos, mãos e roupas dos trabalhadores de ambientes contaminados, conseguindo alcançar um percentual significativo de 31%. Diante desse contexto alarmante de bactérias multiresistentes, é viável estar atento à citação de Lemos et al. [31,32] quanto à necessidade de criação de normas oficiais que consigam atingir a formação mínima dos trabalhadores da área de saúde.

Acinetobacter Baumannii aparece como fator importante no surgimento de bactérias resistentes. O patógeno já não responde aos antimicrobianos disponíveis, conseqüentemente, elevando a permanência, custos, infecções cruzadas eleva as taxas de letalidade colocando em risco crianças, jovens e adultos [33,34,35].

Para Diomedi [31], “na Europa, entre 1997 e 1999, *Acinetobacterbaumanni* foi considerada o nono patógeno mais comum nas infecções da corrente sanguínea”, também “outros resultados foram encontrados no Chile, onde a espécie *Acinetobacterbaumanni* apresentou-se como responsável por 9,4% de todos os surtos nosocomiais relatados entre 1985 e 2002”. Outro local citado é Kosova, no período de 2001 a 2004, onde a bactéria alcançou recorde, predominando em 81,2% dos casos analisados.

Pradatrujillo[36,37] descreveu que a bactéria *Acinetobacterbaumanni* já estava em expansão de maneira assustadora em Bogotá. No ano de 1998, a bactéria já apresentava resistência a todos os antimicrobianos disponíveis, incluindo os carbamapenemos.

Segundo Lemos et al. [31,32], em 1988, a Organização Mundial de Saúde (OMS), considerou o patógeno *Acinetobacterbaumannii* como problema de saúde pública. Também entre de 2000 e 2003, o Sistema de Vigilância Epidemiológica Nacional de Ministério da Saúde (MINSAL) reconhecia o patógeno como grave nos serviços hospitalares. Ao longo de cinco anos, a Organização Mundial de Saúde (OMS), reconheceu o patógeno *Acinetobacterbaumanni* como a principal bactéria com capacidade de causar pneumonias associadas à ventilação mecânica. Infecções causadas nos serviços de saúde (IACS), além de ser considerada causa relevante de mortalidade em nosocômios na América Latina.

Sua afinidade é pelos pacientes internados nas Unidades de Tratamento Intensivo em nosocômios do mundo inteiro. Dada a firmeza de sobrevivência nas superfícies ambientais, permanecendo ativa por longos períodos, vem-se destacando dentre os patógenos pela resistência adquirida com o uso inadequado dos antimicrobianos disponíveis [33,35].

Convém salientar que a *Acinetobacterbaumannii* possui o poder de contribuir no aumento significativo de morbidade e mortalidade sobrevivendo a inúmeros antimicrobianos utilizados e prejudicando em muito indivíduos assistidos no âmbito nosocomial[34,38].

Acinetobacter baumannii tem preferência pelos humanos debilitados, dependentes de aparelhos de suporte à vida, sondados, gastrostomizados, traqueostomizados e outros. Observando neste foco de análise, há informações de que o patógeno também pode ser encontrado nos umidificadores, colchões, almofadas, camas, superfícies ambientais, dentre outros. Numa gama de bactérias resistentes, o patógeno *Acinetobacterbaumanni* tem se considerando responsável por uma variedade de casos de bacteremias, pneumonias, meningites, pneumonias associadas à ventilação mecânica, septemias e outras [37,39].

1.2.2. Plantas medicinais e aromáticas

1.2.2.1. *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim)

Planta originada do Mediterrâneo, cultivada em climas temperados, denominada entre outros alecrim-de-horta, erva-da-graça, alecrim-de-cheiro, rosmarinho, alecrim-de-jardim e outros. Trata-se de um arbusto que vive na região litorânea, tendo preferência por locais pobres e secos, como nos calcários (Figura 1)[40].

O alecrim é utilizado para tratamento de doenças hepáticas, intestinais, renais e do aparelho respiratório. Na composição química do óleo essencial estão presentes compostos, dentre eles carnosol, diterpenos fenólicos, também ácido carnosico, ácido rosmarínico e flavonóides [41].

A constituição do óleo essencial de alecrim compõe-se de alfa pinemo (até 30%), cânfora (15 a 25%) e o eucaliptol (de 15 a 50%), variando de acordo com o local onde é cultivado [40].



Figura 1: *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim).

Fonte: <http://www.hortasbiologicas.pt/aromaticas-alecrim.html>, 2016.

1.2.2.2. *Eugenia caryophyllata* Thunberg – Myrtaceae (Cravo)

Trata-se de planta originada das Molucas e Filipinas Meridionais. Conhecida popularmente como Craveiro, cravinho, craveiro-da-índia, cravo, cravo-aromático, cravo-de-doce, cravo-da-índia, cravo-das-molucas, cravo-girofle, cravo-de-

cabecinha, cravo fétido, cravo, girofle, girofleiro (Figura 2).A planta é bastante cultivada nos países tropicais, Madagascar, Brasil e Indonésia. No caso do Brasil, a herbácea tem sido cultivada na Região Sul do estado da Bahia. Tem amplo emprego na fabricação de óleos essenciais de cravo, também flores e folhas, utilizadas em ornamentações diversas e culinária [42].

Possui capacidade de tratar da saúde como estimulante das funções digestivas, antivirais, antioxidantes, protetora contra trombose, atividades antimicrobianas. Tem propriedades expectorantes e antigripais. Externamente, é utilizado como antiinflamatório, antisséptico, cicatrizante e analgésico. Também possui propriedades como antisséptico nas inflamações orais, faringe, cáries dentárias e otites. O Cravo da Índia é bem utilizado na culinária, principalmente pelo cheiro e gosto, atribuído por um composto fenólico volátil, denominado eugenol. Esta planta possui nas suas folhas e no cravo, a maior parte de óleo essencial extraído. O uso do eugenol na odontologia como bactericida, antissépticos de higiene oral já é bastante estudado e divulgado. [43]

O óleo essencial de cravo é constituído por eugenol (85%), acetato de eugenilo (10 a 15%), humuleno, cariofileno, pinenos, salicilato de metilo; mucilagens; taninos (10 a 12%); fitosteróis (sitosterol, estigmasterol e campesterol); triterpenos (ácido oleanólico 1%) [42].



Figura 2: *Eugenia caryophyllata* Thunberg. – Myrtaceae (Cravo).

Fonte: www.greenme.com.br, 2016.

1.2.2.3. *Melaleuca alternifolia* Cheel. – Myrtaceae (Melaleuca)

A melaleuca (Myrtaceae) é originada da Austrália e renomada como árvore do chá. No Egito, poucas espécies são cultivadas como plantas de jardins [44]. É uma árvore pequena de até 7 m de altura com uma coroa espessa. As folhas têm proeminentes glândulas ricas em óleo aromático. As folhas são carregadas em um pecíolo (haste foliar) de cerca de 1 mm de comprimento. As inflorescências, de 3-5 cm de comprimento, com flores brancas, são solitárias, cada uma dentro de uma bráctea, e têm pétalas de 2-3 mm de comprimento. O fruto é em forma de taça de 2-3 mm de diâmetro, com um furo 1,5-2,5 mm de diâmetro, permitindo a liberação e dispersão das sementes pelo vento [45].

As folhas esmagadas de *Melaleuca alternifolia*, tradicionalmente, foram usadas por aborígenes australianos para tratar infecções cutâneas. Estas plantas são ricas em óleos voláteis empregues na fabricação de cosméticos, bactericidas e anti-sépticos. Os óleos são utilizados para tratamento de várias doenças [44]. Atualmente, a *M. alternifolia* é comercialmente cultivada (especialmente no nordeste da Nova Gales do Sul) para a obtenção do óleo essencial usado como um antisséptico em produtos de cuidados da pele, na indústria de perfumes e em sabões e colutórios. O óleo é eficaz contra infecções bacterianas, fúngicas e virais e pode ser usado em produtos para tratar afecções como pé de atleta, verrugas, acne e infecções vaginais [45].



Figura 3: *Melaleuca alternifolia* Cheel. – Myrtaceae (Melaleuca).

Fonte: http://www.phytoterapica.com.br/loja/index.php?route=product/product&product_id=97, 2016

1.2.2.4. *Origanum vulgare* L. (Orégano)

O orégano é nativo da Europa, com grande utilidade no Brasil e em outros países. Trata-se de planta herbácea, perene, ereta, aromática, possuindo altura de 30 a 50 centímetros. Flores esbranquiçadas, róseas e violáceas. Amplamente aproveitado na culinária das casas, restaurantes, nas pizzas, óleos aromatizantes, dá um toque no sabor. De acordo com as pesquisas realizadas pelo autor, o orégano possui outras denominações como manjerona-baiana, manjerona-selvagem, manjerona, ouregão (Figura 4) [46].

O Orégano possui indicações de uso como estimulante do apetite, dispepsias hipos-secretoras, flatulência e cólicas gastrointestinais. Sua principal indicação é nos episódios de tosse e bronquites, como expectorante [46]. Seus componentes bactericidas dependem do local, clima, tipo de solo que a planta é cultivada bem como seu processo de extração. Além disso, o óregado também é muito utilizado na culinária [47].

O óleo essencial de orégano tem (0,2 a 1%) de predomínio de fenóis, cerca de 50% (timol, carvacrol, β - bisaboleno, cariofileno, p-cimeno, borneol, linalol, acetado de linalilo, α -pineno, β pineno, α -terpineno; flavonóides (derivados do apigenol, luteolol, campferol, diosmetol); ácidos fenólicos e seus estéreis (cafeico, clorogénico, rosmarínico); taninos; constituintes amargos; triterpenos (derivados dos ácidos ursólico e oleanólico [46].



Figura 4: *Origanum vulgare* L. (Orégano).

Fonte: <https://pixabay.com/en/oregano-herbs-kitchen-cook-321037/>, 2016.

1.2.2.5. *Artemisia absinthium* L. (Artemísia)

Artemísia é uma planta originária de climas temperados da Europa central e meridional, norte da África e Ásia. No Brasil, é vista como absinto comum, absinto grande, erva dos vermes, chamada vulgarmente de absinto, absinto-amargoso, acintro, grande-absinto, losna, losna-maior, sintro (Figura 5)[48]. A artemísia anual (*A. annua*), sugere ter capacidade anti-inflamatória, anti-câncer, anti-obesidade, anti-malária, por ter em sua capacidade química dos polifenóis, fazendo parte do rol de vegetais com capacidade medicinal [49].

O óleo essencial possui várias atividades, empregado como digestivo, vermífugo, antimicrobiano, hipnótico e espasmolítico. Também o gosto amargo da Artemísia está sob a responsabilidade da ação eupéptica e coletérica. Do mesmo modo, a ação diurética é de responsabilidade dos sais potássicos e as flavonas. O óleo essencial dessa planta é rico em cineol (0,03 a 0,3%), mais que a cânfora, linalol, tuiona em grandes quantidades. Em menores quantidades estão borneol, alfa cadimol, espatulenol e hidrocarbonetos monoterpênicos; lactonas sesquiterpênicas; flavonóides; fístosteróis e carotenóides [48].



Figura 5: *Artemisia absinthium* L. (Artemisia).

Fonte: <http://magiadailha.blogspot.com.br/2012/05/artemisia-uma-planta-magica.html>, 2016.

1.2.2.6. *Cinnamomum camphora* (Cânfora)

A cânfora, pertence à família das Lauráceas, uma planta originária da China conhecida como Ho-sho (*Cinnamomum camphora*) os nomes vulgares no Brasil são erva-cavaleira e rabugem-de-cachorro (Figura 6). O óleo essencial extraído de suas folhas contém entre 90 e 95% de linalol. O linalol é amplamente aproveitado na indústria alimentar, cosméticos e perfumes. Faz parte do rol de substâncias classe “A” do Conselho Europeu, pela valorização da matéria prima do produto[50].

Convém salientar que a Cânfora se destaca como o óleo essencial de maior aceitação no meio comercial. É denominada “essência de cânfora da China”, muito utilizada pela sua capacidade como antisséptico em gripes e bronquites, doenças catarrais, reumatismo muscular, sintomas cardíacos, estimulante respiratório e revulsivo em mialgias e reumatismos. A cânfora é totalmente aproveitada na confecção do óleo essencial. O óleo essencial decânfora possui altos percentuais de cineol, α -terpineol, (+) D-cânfora (30 a 40%), safrol, mono e sesquiterpenos [51].



Figura 6: *Cinnamomum Camphora* (Canfora).

Fonte: <http://www.fotosearch.com.br/fotos-imagens/c%C3%A2nfora-%C3%A1rvore.html>, 2016.

1.2.2.7. *Eucalyptus*

É conhecido como árvore-da-febre, comeiro-azul, eucalipto, gomeiro-azul, mogno-branco, eucalipto-limão (Figura 7). O Eucalipto glóbulo é originário da Austrália, mas também é cultivado em diversos locais no globo terrestre. Na América do Sul, especificamente no Brasil a variedade desta planta pode ser localizada numa imensa área, com grande utilização das folhas e caule; fornecendo a celulose e ainda óleos, extratos. Das várias espécies do Eucalipto, possui o reconhecimento da medicina popular tratando infecções das vias aéreas superiores[52]. Exerce ainda as funções de antisséptico e cicatrizante. Contribuem no tratamento das gripes, bronquites, tosses, inflamações orofaríngeas, diabetes, cistites, nas infecções cutâneas, na ciática e reumatismos [53].

O óleo essencial das folhas do eucalipto (1,5 a 3,5%) com cerca de 70% de cineol ou eucaliptol, monoterpenos 25% (α -pineno, p-cimeno, limoneno, felandreno), butiraldeído, copralnadeído, azulenos, taninos; resina; flavonas derivadas do ácido ursólico. As folhas inteiras possuem um percentual maior que aquelas cortadas e secas[53].



Figura 7: *Eucalyptus Globulus Leaf Oil* (Eucalipto *globulus*).
Fonte: https://pt.wikipedia.org/wiki/Eucalyptus_globulus, 2016.

1.2.2.8. *Cinnamomum Zeylanicum* Breyn (Canela)

A canela (Figura 8) surgiu, a princípio, no Sudoeste da Ásia, Sri Lanka. É cultivado em vários países do mundo, inclusive o Brasil. A planta possui nomes populares como canela-verdadeira, canela-de-cheiro, canela-da-índia, canela-de-tubo, canela-de-Ceilão, canela-rainha [54]. Lourenzi et al. [54] descrevem sua utilidade no tratamento caseiro, como tratamento de diarreias em crianças, gripes, verminoses, dores de dentes, mau hálito e vômitos, problemas gástricos e perda de apetite. Tal importância da canela também contribui na fabricação de medicamentos. É utilizada também como adstringente. É reconhecida como planta de sabor agradável, utilizada como aromatizantes em farmácias e drogarias desde os primórdios.

O óleo essencial de canela é utilizado como flavorizante aromatizante e conservante natural de alimentos. Foram identificados diversos componentes entre eles o eugenol, composto que apresentou maior percentual (60%) [41]. O óleo essencial de canela tem como mais importante sua capacidade antifúngica e antibacteriana, principalmente em patógenos que atacam o sistema respiratório. Estudos farmacológicos demonstram que o principal componente de seu óleo essencial possui capacidade antibacteriana e antifúngica contra patógenos que causam morbidade no aparelho respiratório [54].



Figura 8: *Cinnamomum Zeylanicum Breyn* (Canela).

Fonte: http://produto.mercadolivre.com.br/MLB-704040706-canela-de-velho-400g-miconia-albicans-diminua-suas-dores-_J, 2016.

1.2.2.9. *Salvia officinalis* (Sálvia)

As variedades de *Salvia* L. compreendem inúmeras categorias no mundo, se adequando às regiões tropicais e subtropicais. O gênero *Salvia* L. compreende 900 espécies de arbustos ou ervas. No Brasil existem espécies nativas e também cultivadas. No conhecimento popular, ela é uma planta medicinal e fornecedora de óleos essenciais [55]. A sálvia também é conhecida por outros nomes como chá-da-europa, chá-da-frança, erva-sacra, erva-santa, salva-das-boticas, salva-mansa. No Brasil, é conhecida como sálvia, salva-dos-jardins, salvo-ordinária (Figura 9) [56].

Não se pode deixar de observar a importância de seu óleo essencial, capaz de ter uma ação antimicrobiana e antissudorífera, antisséptica, espasmolítica, anticolinérgica, ação estrogênica, adstringente e antiinflamatória, falta de apetite, dispepsias hipossecretoras, amenorreia, dismenorreia, climatério e menopausa. Também é usada em infecções orofaríngeas [56].

O óleo essencial compõe 0,8 a 2,5% da planta; as folhas secas devem conter, no mínimo 1,5% com monoterpenos (α -tuiona, β -tuiona 35 a 65%, cânfora, borneol, cineol) e sesquiterpenos; isoflavonas, flavonóides (glucósidos de luteolol, apigenol); constituintes amargos (picrosalvina); diterpenóides (ácido carnósico, carnosol; triterpenóides (ácido oleanólico; ácidos fenólicos (cafeico, clorogénico, romarínico); taninos (3 a 7%) [56].



Figura 9: *Sálvia Officinallis* (Sálvia).

Fonte: <http://www.canstockphoto.com.br/azul-salvia-0669546.html>, 2016.

1.2.2.10. *Cymbopogon winterianus* (Citronela)

A *Citronela* (Figura 10), pertencente ao gênero *Cymbopogon*, possui aproximadamente 56 variedades de plantas medicinais, farmacológicas e também industriais. A denominada Citronela de Java, é rica em geraniol e citronelal que possuem atividades acaricidas, antimicóticas e repelentes. Esta planta pode ser encontradas em países tropicais, como no Brasil; e são conhecidas de acordo com a região de cultivo. Seu óleo essencial é originado do arraste a vapor de suas folhas frescas ou parcialmente dessecadas [57].

Pela existência de substâncias voláteis em suas folhas como citronelal, eugenol, geraniol e limoneno entre outras, é utilizada como repelente de mosquitos e como inseticidas, além da capacidade carrapaticida [58].



Figura 10: *Cymbopogon winterianus*(Citronela).

Fonte:<http://harmonizacaodeespacos.blogspot.com.br/2015/06/citronela-repelente-natural.html>, 2016.

1.2.2.11. *Mentha piperita*(Hortelã-pimenta)

A mentha (*Mentha piperita* L.), é um vegetal aromático capaz de fornecer o óleo essencial rico em mentol, que possui grande utilização nas indústrias de alimentos, higiene, farmacêuticos [59].

A menta foi trazida da Europa para o Brasil na época colonização. Desde então, essa planta vem sendo utilizada como tempero para carnes e massas na culinária e com fins alimentícios, medicinais, cosméticos, como ocorre com outras plantas do mesmo gênero [60]. Também é conhecida como hortelã (Figura 11), hortelã-pimenta, menta, menta-inglesa, hortelã-apimentada, hortelã-das-cozinhas, menta-inglesa, sândalo. O óleo essencial de menta é utilizado para dar sabor a medicamentos, cosméticos e guloseimas [60].

Possui capacidade como antisséptica, tranquilizante suave, anti-helmíntica, espasmolítica, vomitiva, estomáquica por ingestão via-oral. Já no uso tópico, tem papel de antibacteriana e antifúngica. Os principais constituintes do óleo essencial são mentol (35 a 45%) e seus ésteres dos ácidos acéticos e isovalérico, mentona (10 a 30%) e, em menores quantidades, isomentona mentofurano, cineol, limoneno, carvona e pulegona [60].



Figura 11: *Mentha piperita*(Hortelã-Pimenta).
Fonte:http://www.floraofqatar.com/mentha_piperita.htm, 2016.

1.2.3. Óleos essenciais

Os óleos essenciais são elementos voláteis, encontrados em número significativo de plantas. Possuem a função de proteger os órgãos vegetais contra os microorganismos. A retirada do óleo das plantas é realizada, em algumas ocasiões, pelo arraste a vapor, em outras pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos. Frutos, folhas, flores formam a matéria-prima na sua produção [61,62].

Os óleos são denominados metabólitos secundários, removidos de várias partes de plantas, formação química de elevada complexidade capaz de garantir a sobrevivência. O desenvolvimento desses óleos varia dependendo do local de cultivo, forma de manejo, além da variedade climática de cada região [63].

Os óleos essenciais são utilizados para fins farmacêuticos, produção de perfumes, acrescentado no tempero de alimentos, como também em produtos cosméticos e de higiene pessoal, por possuírem propriedades antioxidantes e antibacterianas [64,65].

Encontra-se em crescimento o interesse dos consumidores por ingredientes funcionais, originados de fontes naturais. Assim, incrementa-se o crescimento do uso de óleos essenciais nas indústrias de alimentos, bebidas, materiais de uso pessoal e cosméticos. É possível a aplicação dos óleos essenciais nas indústrias

objetivando prevenir a deterioração lipídica, oxidação e posterior contaminação por patógenos[66].

A crescente busca das empresas por novos produtos nessa área constitui mercado promissor para a exploração da flora aromática nacional, sem perder de vista a possibilidade da exploração comercial dos recursos genéticos e a possibilidade de fornecimento constante dos óleos essenciais, a conservação da biodiversidade, benefícios para os seres vivos que terão de levar em conta, além do fornecimento contínuo desses óleos, a conservação dos ecossistemas e a melhoria das condições de vida das populações locais. O Brasil é um possuidor de uma imensa diversidade genética no mundo [67].

Diante de situação emergencial de bactérias com resistência aos antimicrobianos utilizados, ressurgem as buscas de soluções alternativas para o controle de patógenos[65].

Na atualidade, uma diversidade de plantas e óleos essenciais é de fácil alcance pela população. Os óleos essenciais têm sido experimentados quanto à sua capacidade de eliminar micro-organismos patogênicos, com o objetivo de mitigar os danos causados pelo uso crônico de antimicrobianos sintéticos, como contra o desenvolvimento de patógenos resistentes. Para que o tema se torne realidade, faz-se necessário o embasamento científico para posterior aplicação na clínica quando necessário. Freire et al.[68] relatam que se tem elevado o uso das plantas medicinais no tratamento de doenças, o que poderá reduzir acentuadamente as desvantagens ocasionadas pelos antimicrobianos sintéticos.

Mesmo com os resultados de pesquisas com óleos essenciais em diversos locais, não existe no meio científico um consenso que possa alertar o sistema público de saúde para tomada de decisões globais que produzam sensibilização com o assunto [69].

1.4. Objetivos

Avaliar a eficácia de óleos essenciais no controle *in vitro* de *Acinetobacter baumannii*.
Avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) e realizar a cinética bactericida dos óleos essenciais.

2. MATERIALE MÉTODOS

2.1. Linhagem bacteriana e meios de cultivo

Foi utilizada a linhagem de *Acinetobacter baumannii* ATCC 17978 (American Type Culture Collection). Foi empregado para o cultivo ágar sangue agar (Oxoid®) e incubação a 35°C por 48 horas. As suspensões bacterianas foram realizadas tomando-se de três a quatro colônias da linhagem. *Acinetobacter baumannii* cultivadas em ágar sangue, que foram inoculadas em meio Brain Heart Infusion Broth (BHI, Oxoid®) e incubadas em condições de aerobiose por 24 horas a 37°C, quando se procedeu à centrifugação (4000 rpm) por cinco minutos. Em seguida, o sobrenadante foi desprezado e o material precipitado ressuspendido em solução estéril de NaCl (0,85%) e, novamente, submetido à centrifugação. Esse procedimento foi repetido cinco vezes com a finalidade de retirar os componentes do meio de cultura.

Após esse procedimento, a suspensão bacteriana foi diluída em solução salina estéril (NaCl 0,85%) até atingir a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala de Mac-Farland, equivalente à concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Essa suspensão bacteriana constituiu o inóculo para avaliação antibacteriana dos óleos pela técnica de microdiluição em placas [70], para obtenção da concentração inibitória mínima (CIM), da concentração bactericida mínima (CBM) e a cinética bactericida dos óleos essenciais.

2.2. Óleos essenciais

Foram utilizados treze óleos essenciais adquiridos na FERQUIMA Indústria e Comércio Limitada (Vargem Grande Paulista, SP, Brasil). Na tabela 1 estão descritas as características dos óleos essenciais fornecidos pelo fabricante. Os experimentos foram conduzidos empregando-se concentrações que variaram de 0,39 a 100,00%, sendo elas: 0,39%, 0,78%, 1,56%, 3,12%, 6,25%, 12,50%, 25,00%, 50,00%, 100,00% e o controle negativo [71].

2.3. Teste de esterilidade do óleo essencial

A fim de assegurar a esterilidade dos óleos essenciais, foram preparadas diluições dos óleos essenciais em uma placa de microtitulação de 96 poços, incluindo um controle de crescimento (BHI + Tween 80) e um controle de esterilidade (óleo de teste BHI + Tween 80+). As placas foram incubadas a 37°C durante 24h. O crescimento bacteriano contaminante foi indicado pela presença de um "pellet" branco no fundo do poço; o óleo foi considerado estéril quando não havia crescimento bacteriano ou ausência de "pellet" [72].

2.4. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

Todas as avaliações foram realizadas em caldo BHI suplementado com detergente Tween 20 (concentração final de 0,5% (v / v)). A linhagem de *Acinetobacter baumannii* foi suspensa em caldo BHI para dar uma densidade final de 10^6 CFU mL⁻¹, e estas foram confirmadas por contagens de células viáveis. A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) foram avaliadas de acordo com o procedimento recomendado pela CLSI (2012) [61]. A CIM foi determinada por um método de microdiluição em placas de noventa e seis poços. Após incubação a 37°C por 24h, a CIM foi avaliada, e a presença de células bacterianas viáveis nas concentrações não inibitórias foi determinada pela adição, em cada amostra, do corante 2,3,5 -Triphenyltetrazolium Chloride, no volume de 50 µL. Isto tornou possível distinguir as amostras vivas, coloridas de vermelho, daquelas mortas que mantiveram a sua cor. A concentração inibitória mínima foi considerada como a menor concentração de óleo essencial capaz de inibir o desenvolvimento bacteriano [73].

A concentração bactericida mínima (CBM) foi determinada após a obtenção dos resultados da CIM. As placas de microdiluição contendo poços com crescimentos visíveis ou não foram agitadas vigorosamente com o auxílio do micropipetador e, em seguida, 100µL da solução de cada poço foram transferidos para placas de Petri contendo meio ágar sangue e incubados a 37°C por 24 h.

Tabela 1: Nomes vulgar e científico das plantas medicinais e características dos óleos essenciais

Características dos óleos essenciais							
Nome comum	Nome científico	Nº CAS*	Lote	Cor	Densidade (20°C)	IR**(20°C)	Principais componentes
Alecrim	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	8008-45-5	158	Amarelo palha	0,915	1,467	Beta-pineno (8%); 1,0 cineol (40%) Cânfora (12%)
Artemísia	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	84775-45-1	218	Amarelo	0,942	1,466	Alfa-tujone (47%); Beta-Tujone (10%)
Canela Cassia	<i>Cinnamomum cassia</i> (L.) Presl)	84961-46-6	216	Amarelo – marrom	1,053	1,609	Aldeído cinâmico (81%); cumarina (3%); Benzaldeído (3%); Álcool cinâmico (3%); Estireno (3%)
Cânfora Branca	<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J. Presl camphortree	8008-51-3	113	Incolor	0,875	1,468	Limoneno (26%); 1,8-cineol 30%); alfa- pineno (13%)
Citronela	<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt	8000-29-1	142	Amarelo claro	0,885	1,4670	Não determinado
Cravo (Folha)	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L. M. Perry	8015-87-2	218	Amarelo	1,047	1,536	Eugenol (86%)
Eucalipto Staigeriana	<i>Eucalyptus staigeriana</i> F. Muell. ex F. M. Bailey	92502-70-0	116	Amarelo	0,878	1,475	Limonene (9%)
Eucalipto globulus	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill	8000-46-4	158	Incolor	0,913	1,461	1,8 Cineol (80%); Limonene (9%); Alpha pinene (9%)
Eucalipto Citriodora	<i>Eucalyptus citriodora</i> Hook	92502-70-0	107	Amarelo	0,864	1,454	Citronelal (76%)
Melaleuca (Tea Tree)	<i>Melaleuca alternifolia</i> Cheel	68647-73-4	194	Amarelo palha	0,896	1,477	Terpinen-4 ol (42%); Gamma terpinene (22%); Alpha terpinene (10%); Cineol (1,5%)
Menta piperita	<i>Mentha piperita</i> L.	84082-70-2	185	Amarelo palha	0,902	1,460	l-mentol (33%); Mentona (30%); Acetato de metila (4%); Eucaliptol (6%)
Orégano	<i>Origanum vulgare</i> L.	84012-24-8	224	Marrom	0,954	1,511	Carvacrol (71%); Timol (3%); Gamma- terpineno (4,5%); Para-cimeno (3,5%); Beta- carfiofileno (4%)
Salvia	<i>Salvia sclarea</i> L.	8016-63-5	215	Amarelo palha	0,892	1,461	Acetato de linalila (64%); Linalol (20%)

* Nº CAS: Chemical Abstracts Service

**IR: Índice de Refração

Designou-se como CBM a concentração mínima em que não ocorreu crescimento bacteriano [74].

2.5. Cinética bactericida dos óleos essenciais

Foi empregada a metodologia descrita por Allahghadri et al.[73]. Foram adicionados em tubos 40 mL de cada óleo essencial na diluição determinada por CBM a cada 5mL de caldo de BHI contendo suspensão bacteriana de 10^6 UFC mL⁻¹ e foram, em seguida, incubados a 37°C. Amostras (0,1 mL) foram retiradas a cada 10 minutos por um período de 180min. As amostras foram imediatamente lavadas com tampão de fosfato estéril, pH 7,0, centrifugadas a 10000 rpm, ressuspensas no tampão e depois foram espalhadas em cultura ágar BHI durante 24h a 37°C. Todas as avaliações foram realizadas em triplicata. As colônias microbianas foram contadas após o período de incubação. Foi realizada uma avaliação sobre a variação da carga microbiana a fim de observar qual óleo essencial apresentou a maior variação negativa (queda) na contagem microbiana. Esta análise determina que quanto maior a variação negativa, maior foi a eficácia do óleo essencial. Nesse contexto, a variação percentual da contagem microbiana consistiu-se da seguinte relação:

$$Contagem\ microbiana_{\text{óleo\ essencial}}(\%) = \frac{(Contagem_{0,39\%} - Contagem_{0,0\%})}{Contagem_{0,0\%}} \times 100$$

Essa relação foi empregada para todos os óleos essenciais avaliados e para todas as concentrações empregadas. De acordo com a expressão acima, variações negativas mostram diminuição na contagem microbiana e variações positivas mostram aumento da contagem microbiana à medida que a concentração do respectivo óleo essencial aumenta.

2.6. Análise estatística

Para análise dos dados, foram realizadas análises descritivas da contagem microbiana de acordo com as variadas concentrações de inúmeros óleos essenciais avaliados. Foi feita a abordagem dos dados de contagem microbiana por meio de

gráficos de linha, a fim de observar a evolução da contagem microbiana com o aumento da concentração do óleo essencial. Utilizou-seo Teste de Kruskal-Wallis para a comparação da variação da contagem microbiana em relação à concentração e ao tempo de análise, sendo esse último referente à concentração bactericida mínima (CBM).

O teste estatístico foi aplicado com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS

Com os resultados da Tabela 2, foi possível determinar as concentrações bactericidas mínimas para cada um dos óleos essenciais estudados, destacando a forte eficácia dos óleos essenciais de citronela, menta e eucalipto já que esses anularam a carga microbiana em concentrações abaixo de 3,12 %; e o fraco efeito antimicrobiano dos óleos essenciais de cânfora, canela, cravo da Índia, eucalipto *globulus* e orégano. Os demais óleos essenciais apresentaram efeito antimicrobiano intermediário.

As figuras 12 e 13 mostram o comportamento das contagens microbianas referentes a cada uma das concentrações utilizadas para os óleos essenciais mais efetivos (citronela, menta e eucalipto). É possível observar que a contagem microbiana com a utilização da concentração de 0,39 surtiu efeitos positivos no que se refere ao efeito antimicrobiano do óleo de citronela, sendo esse considerado o óleo essencial mais eficaz. O óleo essencial de menta também apresentou elevada eficácia, sendo sua atividade antimicrobiana efetiva a 1,56% de Concentração. As figuras 14 e 15 mostram o detalhe do comportamento da contagem microbiana para os óleos essenciais menos eficazes: cânfora, canela, cravo da Índia, eucalipto e orégano. A CMI e CMB para esses óleos atingiu níveis de 25% para o óleo essencial de cânfora e 12,5 para os demais óleos mencionados.

Tabela 2: Médias da contagem microbiana para cada uma das concentrações avaliadas

Óleo essencial	0%	0,39%	0,78%	1,56%	3,12%	6,25%	12,5%	25%	50%	100%	CIM ¹	CBM ¹
Alecrim	$1,0 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^3$	$1,9 \cdot 10^2$	$4,6 \cdot 10^1$	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,25 %	12,5 %
Artemísia	$1,0 \cdot 10^6$	$7,6 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^3$	$9,0 \cdot 10^2$	$1,4 \cdot 10^2$	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,12 %	6,25 %
Canela	$1,0 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^5$	$8,8 \cdot 10^4$	$1,8 \cdot 10^3$	$6,1 \cdot 10^2$	8,6	1,0	0,0	0,0	0,0	12,5 %	12,5 %
Cânfora	$1,0 \cdot 10^6$	$3,1 \cdot 10^5$	$3,6 \cdot 10^4$	$3,2 \cdot 10^3$	$8,8 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^2$	$4,2 \cdot 10^1$	4,0	0,0	0,0	25 %	25 %
Citronela	$1,0 \cdot 10^6$	$2,3 \cdot 10^1$	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,39 %	0,39 %
Cravo da Índia	$1,0 \cdot 10^6$	$1,8 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^3$	$8,1 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^1$	3,3	0,0	0,0	0,0	12,5 %	12,5 %
Eucalipto citriodora	$1,0 \cdot 10^6$	$3,2 \cdot 10^4$	$4,3 \cdot 10^3$	$5,6 \cdot 10^2$	$6,5 \cdot 10^1$	6,6	0,0	0,0	0,0	0,0	3,12 %	6,25 %
Eucalipto globulus	$1,0 \cdot 10^6$	$1,2 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^4$	$2,4 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^2$	$2,6 \cdot 10^1$	2,3	0,0	0,0	0,0	12,5 %	12,5 %
Eucalipto staigeriana	$1,0 \cdot 10^6$	$5,4 \cdot 10^3$	$3,2 \cdot 10^2$	$9,2 \cdot 10^1$	5,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,56 %	3,12 %
Melaleuca	$1,0 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^4$	$2,1 \cdot 10^3$	$8,3 \cdot 10^2$	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,12 %	3,12 %
Menta	$1,0 \cdot 10^6$	$1,7 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^2$	8,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,56 %	1,56 %
Orégano	$1,0 \cdot 10^6$	$5,6 \cdot 10^4$	$9,4 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^3$	$9,5 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^2$	4,3	0,0	0,0	0,0	12,5 %	12,5 %
Sálvia	$1,0 \cdot 10^6$	$4,3 \cdot 10^4$	$1,4 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^3$	$2,9 \cdot 10^2$	$5,5 \cdot 10^1$	1,3	0,0	0,0	0,0	6,25 %	12,5 %

¹CIM: concentração inibitória mínima e CBM: concentração bactericida mínima.

As Figuras 12 e 13 mostram o comportamento das contagens microbianas referentes a cada uma das concentrações utilizadas para os óleos essenciais mais efetivos (citronela, menta e eucalipto *staigeriana*). É possível observar que a contagem microbiana com a utilização da concentração de 0,39 % surtiu efeitos positivos no que se refere ao efeito antimicrobiano do óleo de citronela, sendo esse considerado o óleo essencial mais eficaz. O óleo essencial de menta também apresentou elevada eficácia, sendo sua atividade antimicrobiana efetiva a 1,56 % de concentração.

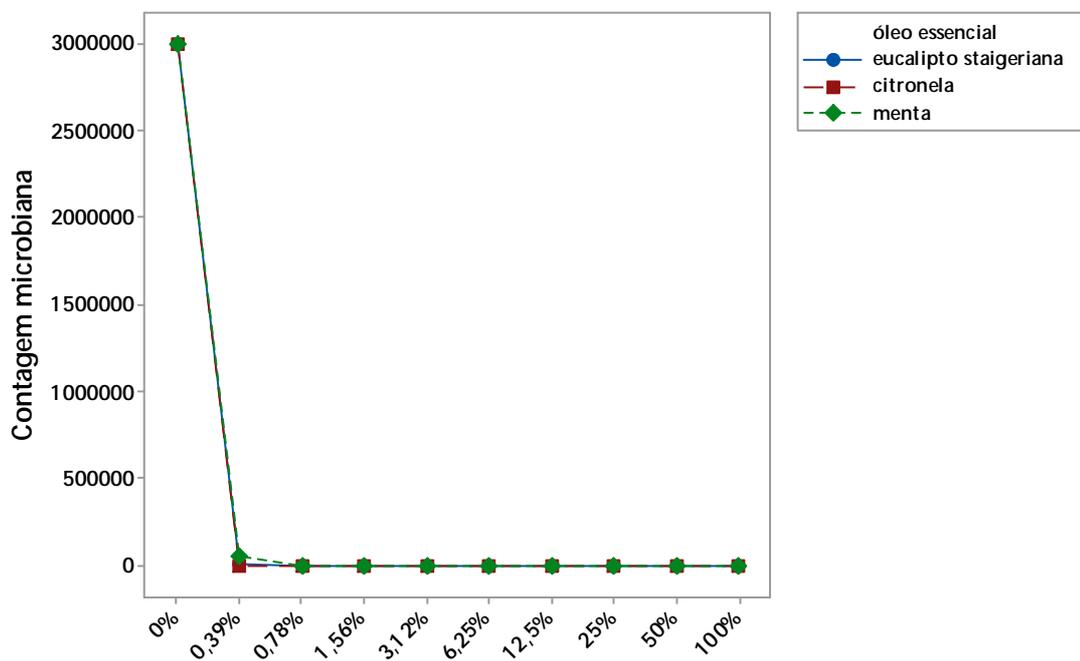


Figura 12: Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais mais eficazes.

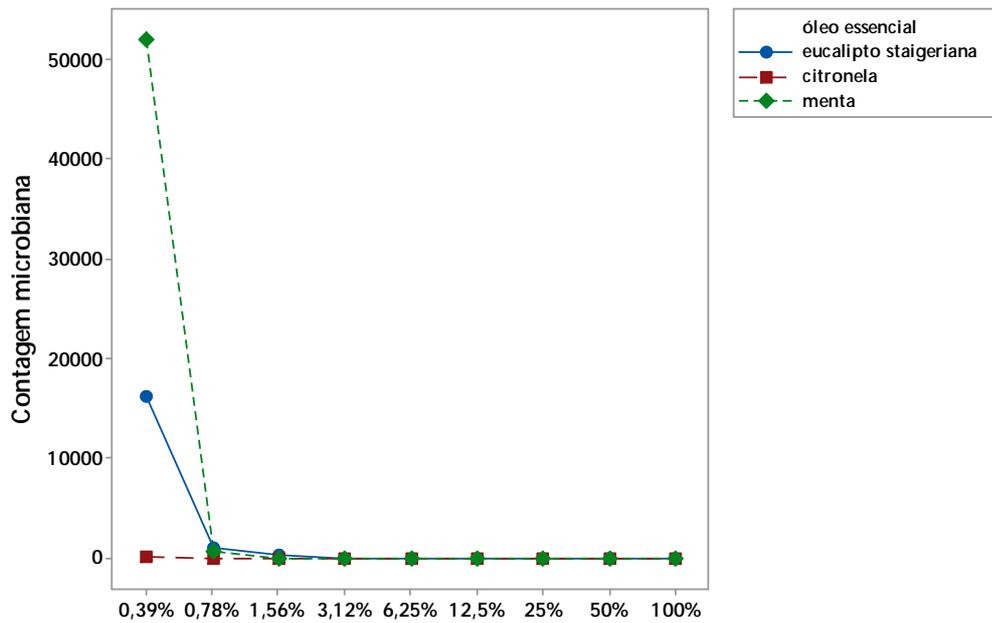


Figura 13: Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais mais eficazes, excluindo a concentração inicial de 0,0 %.

. As Figuras 14 e 15 mostram o detalhe do comportamento da contagem microbiana para os óleos essenciais menos eficazes: cânfora, canela, cravo da índia, eucalipto *globulus* e orégano. A CMI e CMB para esses óleos atingiu níveis de 25 % para o óleo essencial de cânfora e 12,5 % para os demais óleos mencionados.

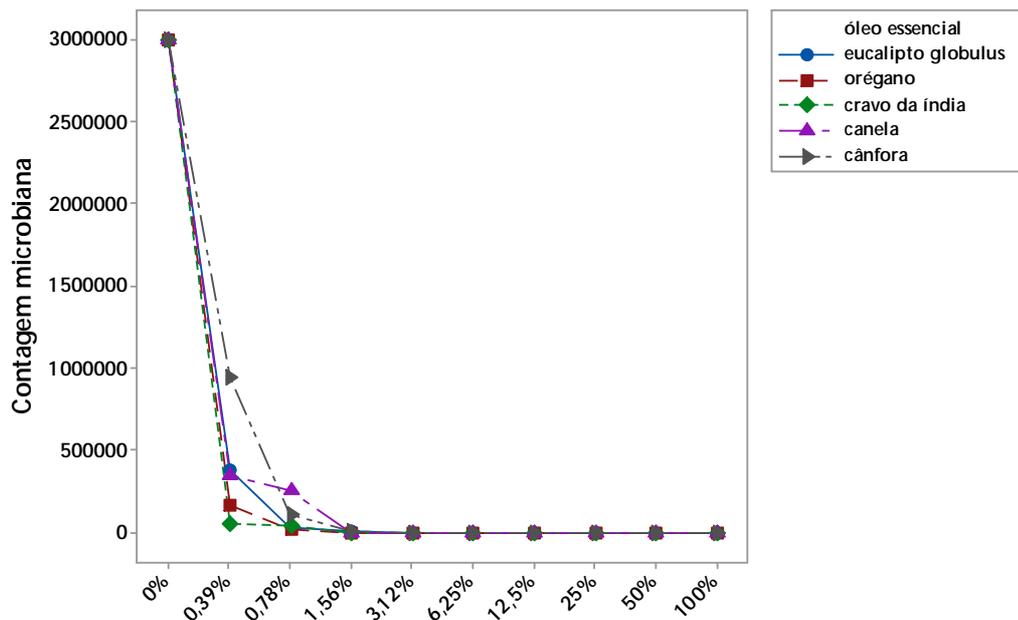


Figura 14: Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais menos eficazes.

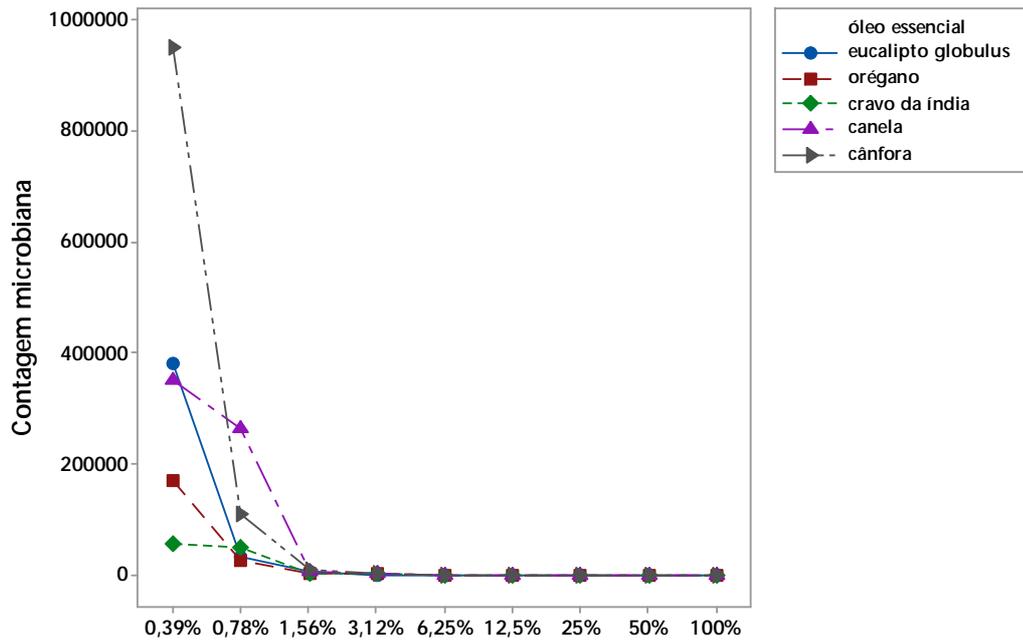


Figura 15: Comportamento da contagem microbiana de acordo com as concentrações avaliadas dos óleos essenciais menos eficazes, excluindo a concentração de 0,0 %.

No que se refere aos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário, foi possível observar maior eficácia dos óleos de *melaleuca*, eucalipto citriodora e *Artemisia* (Figuras 16 e 17), e menor eficácia dos óleos de alecrim e sálvia (Figuras 18 e 19).

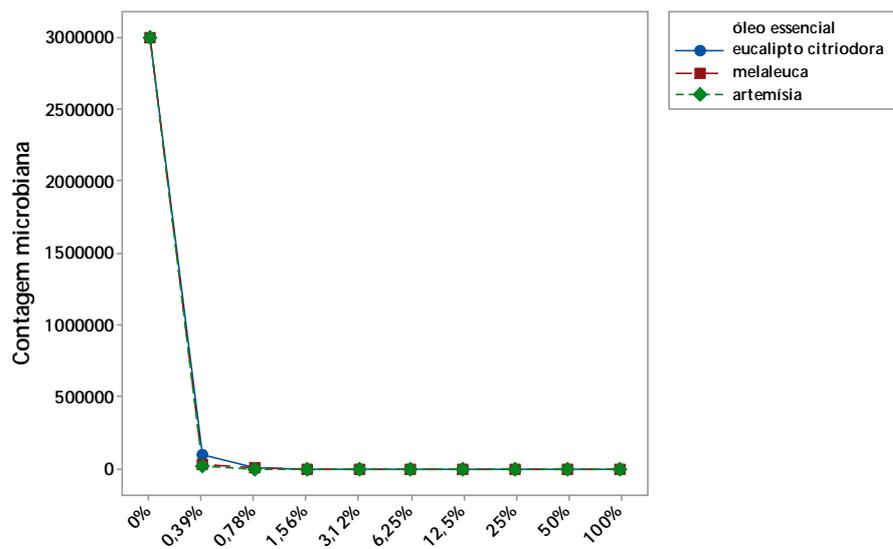


Figura 16: Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (mais eficazes).

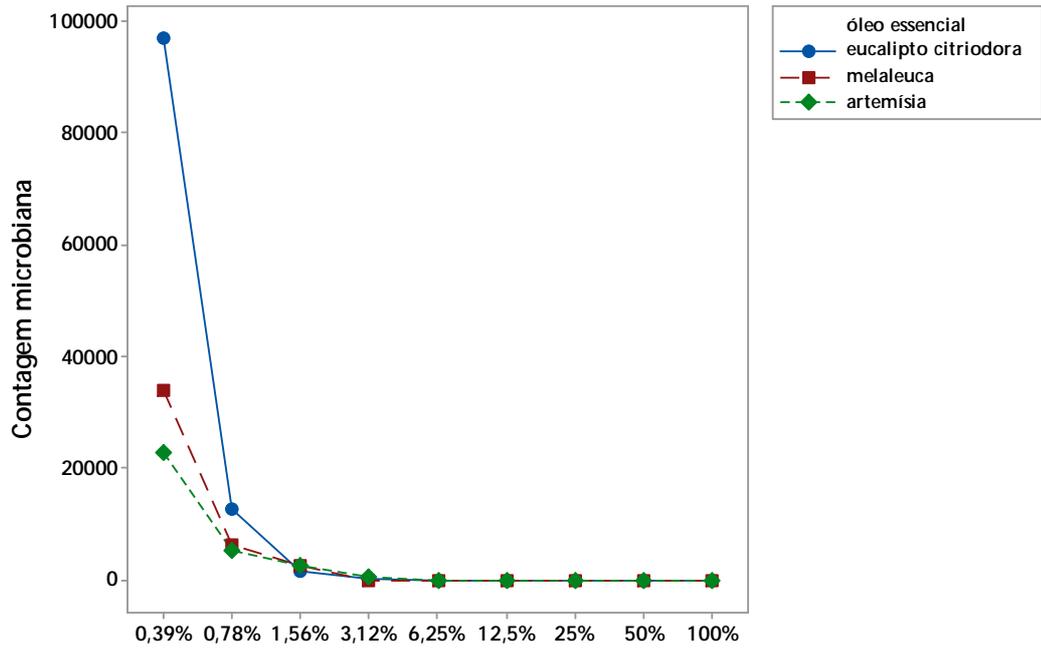


Figura 17: Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (mais eficazes), excluindo a concentração de 0,0%.

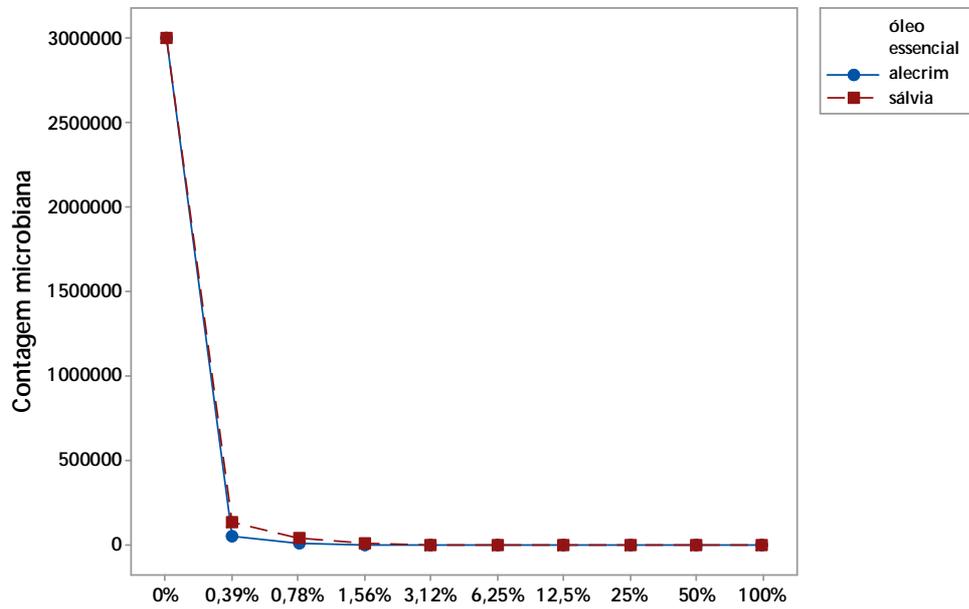


Figura 18: Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (menos eficazes).

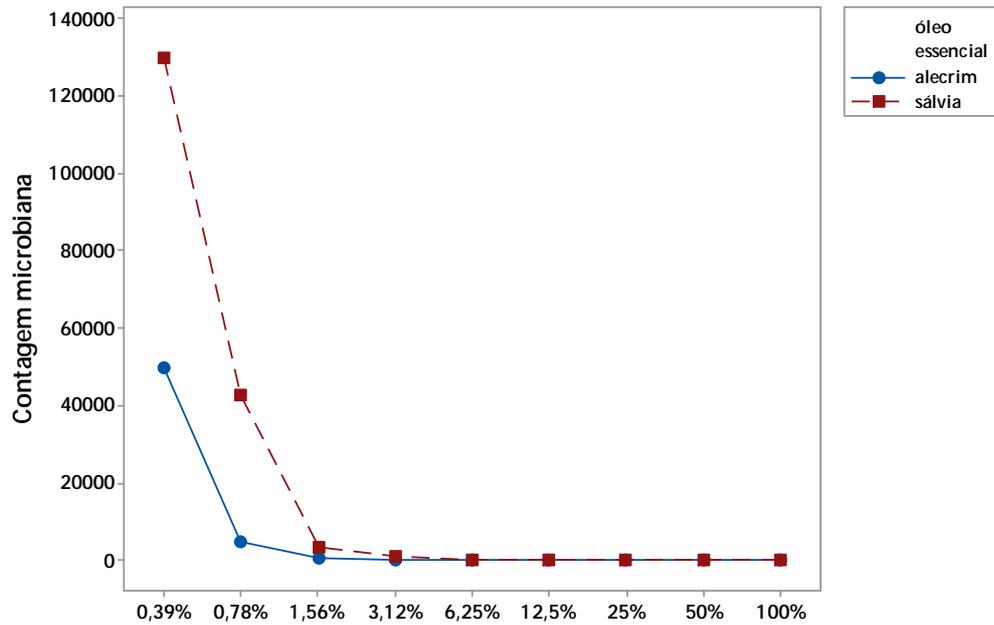


Figura 19: Contagem microbiana dos óleos essenciais com efeito antimicrobiano intermediário (menos eficazes), excluindo a concentração de 0,0%.

A variação percentual da contagem microbiana foi determinada por meio de estatísticas descritivas (Tabela 3), a fim de observar quais óleos essenciais obtiveram maior eficácia na redução da contagem microbiana.

Os resultados das médias das contagens microbianas diferiram significativamente dos resultados das medianas, sendo necessária a aplicação de um teste de comparação não paramétrico baseado na posição das medianas das variações da contagem microbiana. Nesse contexto, os resultados mostraram a existência de diferenças significativas nas variações percentuais da contagem microbiana ($p=0,033$), pois o valor p resultou inferior ao nível de significância adotado para o teste estatístico ($p<0,050$).

Tabela 3: Estatísticas descritivas da variação percentual (%) da contagem microbiana em relação aos extratos vegetais avaliados

Óleo essencial	n	Média±DP	Mediana (Md) ²	Valor p ¹
Alecrim	18	-91,32±8,53	-92,29 c	
Artemísia	18	-84,18±18,37	-90,52 cd	
Canela	21	-80,67±25,98	-88,89 cd	
Cânfora	24	-82,73±12,15	-87,32 d	
Citronela	6	-100,0±0,001	-100,0 a	
Cravo da Índia	21	-74,19±35,50	-93,83 cd	
Eucalipto citriodora	18	-91,43±5,31	-88,32 cd	0,003
Eucalipto globulus	21	-88,88±7,49	-90,00 cd	
Eucalipto staigeriana	15	-91,82±11,13	-94,68 bc	
Melaleuca	15	-88,04±16,22	-98,90 bc	
Menta	12	-97,93±2,53	-98,30 ab	
Orégano	21	-81,44±25,80	-88,54 cd	
Sálvia	21	-86,75±12,34	-92,14 cd	

¹ Valor p referente ao teste de Kruskal-Wallis a $p < 0,05$. ² Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa na variação pelo teste de comparação múltipla de Dunn a $P < 0,05$.

A Figura 20 mostra o comportamento das variações percentuais da contagem microbiana de cada um dos óleos essenciais avaliados.

É possível notar que os intervalos de confiança dos óleos de citronela e menta se sobrepõem, evidenciando ausência de diferenças significativas na variação da contagem microbiana desses óleos essenciais. Esse resultado mostra que a mediana da variação da contagem microbiana foi maior para os óleos de citronela e menta, sendo que a variação desses óleos mencionados não diferiu de forma significativa.

Os óleos de eucalipto *staigeriana* e *melaleuca* apresentaram destaque na análise da variação da contagem microbiana, evidenciando sua elevada eficácia na diminuição da carga microbiana à medida que a concentração do óleo essencial aumentou. Os óleos essenciais de eucalipto citriodora, orégano, canela e cânfora apresentaram as menores variações da carga microbiana, pressupondo sua menor eficácia na diminuição dos micro-organismos avaliados, já que a variação da contagem dos micro-organismos desses óleos essenciais foram superiores a -90 % (linha tracejada da Figura 20).

A elevada dispersão dos dados de variação da carga microbiana determinou a necessidade da aplicação de um teste não paramétrico, o qual aborda a comparação entre as medianas das distribuições dos dados, já que essa estatística não é influenciada por valores discrepantes (*outliers*) que, por sua vez, influenciam de forma significativa a média da distribuição, impossibilitando a sua aplicação como estatística de teste. Se um teste paramétrico, que utiliza a média como estatística de teste, fosse empregado nesse caso, o resultado seria equivocado, pois a dispersão dos dados referentes a alguns óleos essenciais foi significativa, influenciando a média da distribuição.

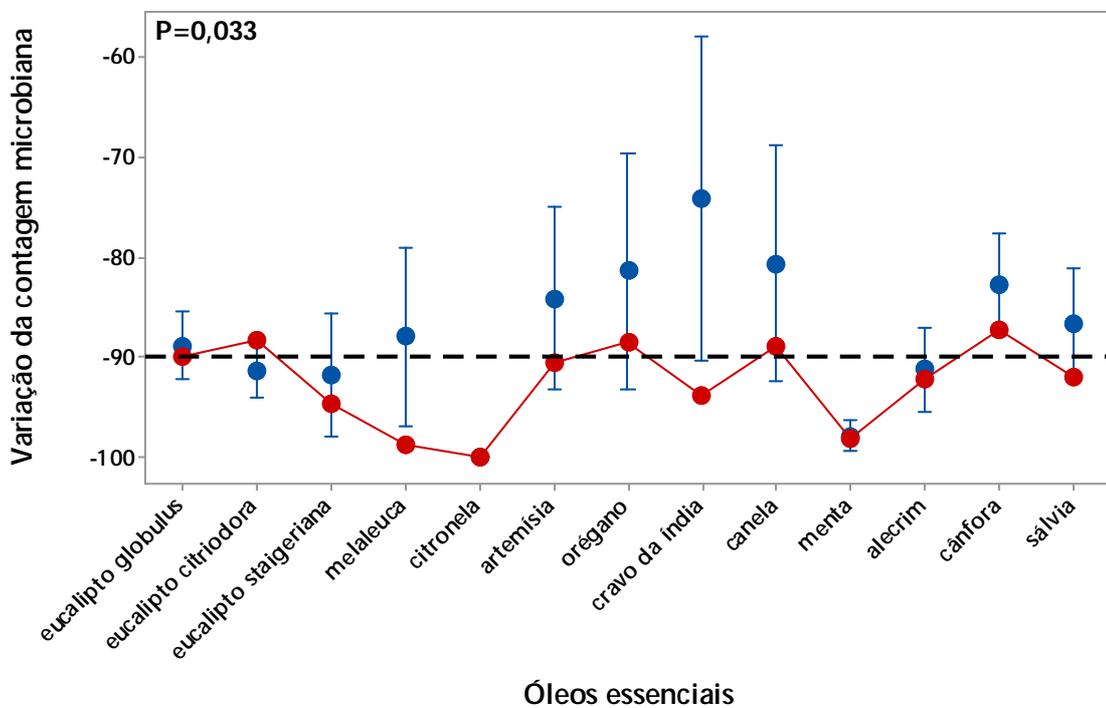


Figura 20: Variação percentual da contagem microbiana dos óleos essenciais estudados
Nota: Pontos azuis referem-se à média e pontos vermelhos à mediana.

A Figura 21 mostra um apanhado geral das variações da concentração microbiana por óleo essencial avaliado.

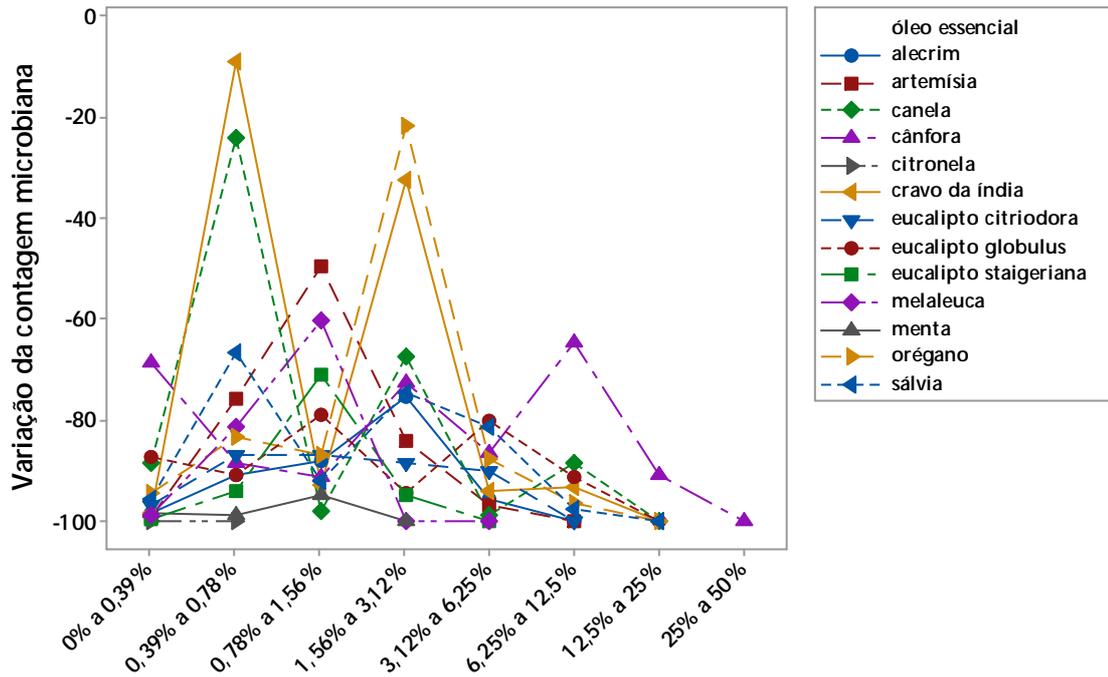


Figura 21: Variação percentual da contagem microbiana dos óleos essenciais estudados.

É possível observar, pelos resultados da Figura 21, que nenhum dos óleos essenciais apresentou variações positivas, ou seja, em nenhum caso ocorreu aumento da contagem microbiana.

A Figura 22 mostra os resultados da variação da contagem microbiana para os óleos essenciais mais eficazes (citronela, menta e *melaleuca*); é possível observar que a variação, em todos os casos, foi negativa, sendo tal variação menor que -60 %, evidenciando maior diminuição da atividade microbiana. A contagem microbiana tornou-se nula em concentrações acima de 0,78 % para o óleo essencial de citronela (mais eficaz), concentrações acima de 3,12 % para o óleo essencial de menta e acima de 6,25 % para o óleo essencial de *melaleuca*.

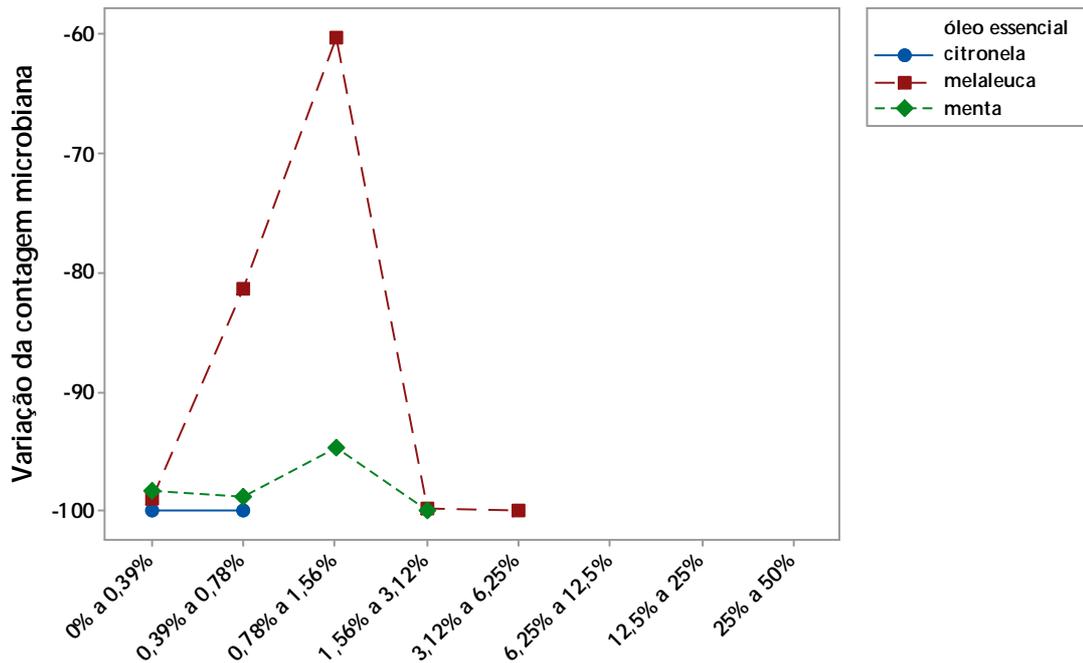


Figura 22:Variação da contagem microbiana para os óleos essenciais mais eficazes.

A Tabela 4 mostra as médias das distribuições da contagem de *Acinetobacter baumannii* por tempo de exposição à concentração bactericida mínima (CBM).

Os resultados da Tabela 4 indicam que os óleos essenciais de *melaleuca*, orégano e cravo-da-índia, em suas concentrações bactericidas mínimas, apresentaram maior eficácia, pois anularam a carga microbiana em até 60 minutos. Os óleos essenciais de cânfora, eucalipto *globulus* e sálvia apresentaram menor eficácia nas suas respectivas concentrações bactericidas mínimas, pois anularam a carga microbiana em 180, 140 e 130 minutos, respectivamente.

A Tabela 5 mostra as estatísticas descritivas da variação percentual da contagem microbiana em relação ao intervalo de análise considerado para cada óleo essencial.

Tabela 5: Estatísticas descritivas da variação percentual (%) da contagem de *A. baumannii* em relação aos tempos de análise

Óleo essencial	n	Média±DP	Mediana (Md) ²	Valor p ¹
Alecrim	24	-40,80±138,60	-83,10	
Artemísia	33	-24,10±154,20	-85,90	
Canela	27	-43,70±127,10	-80,00	
Cânfora	54	2,50±171,80	-56,00	
Citronela	21	-37,70±113,40	-93,20	
Cravo da Índia	18	-91,71±5,30	-92,02	
Eucalipto citriodora	24	-76,96±21,49	-83,16	<0,001
Eucalipto globulus	42	-31,10±95,30	-46,40	
Eucalipto staigeriana	21	-89,01±10,10	-92,86	
Melaleuca	12	-97,63±2,51	-98,04	
Menta	33	-47,30±68,60	-69,40	
Orégano	15	-69,40±58,70	-96,80	
Sálvia	39	-49,18±51,76	-62,37	

¹ Valor p referente ao teste de Kruskal-Wallis a P<0,05.

Os resultados indicaram a presença de diferenças significativas nas variações da contagem microbiana quando os óleos essenciais foram comparados (P<0,001). É possível pressupor que os óleos de *melaleuca*, orégano, citronela, eucalipto *staigeriana* e cravo-da-índia tenham apresentado variações negativas que superaram 90 % de redução, evidenciando queda significativa na contagem microbiana quando utilizada a concentração bactericida mínima. Os óleos que apresentaram menor eficácia foram os de eucalipto *globulus* e o de cânfora, pois resultaram em uma variação negativa menor, pressupondo menor redução na contagem microbiana. Vale ressaltar que o óleo essencial de cânfora, apesar da elevada dispersão dos dados, apresentou variação média positiva, indicando crescimento do micro-organismo ao longo do tempo observado na análise.

Os resultados da Figura 23 mostraram que alguns óleos como o de eucalipto *globulus*, citronela, artemísia, orégano, canela, menta, alecrim, cânfora e sálvia

apresentaram, em algum momento, variação da contagem microbiana positiva, indicando aumento da contagem microbiana. Isso demonstra que a ação da concentração bactericida mínima (CBM) é questionável nesses óleos, visto que, em determinados momentos, o micro-organismo se prolifera, sendo esse efeito indesejável. Os óleos de eucalipto citriodora e *staigeriana*, *melaleuca* e cravo-da-índia não apresentaram variações positivas em nenhum momento da análise, demonstrando sua real eficácia no que se refere à diminuição da carga microbiana quando se utiliza a CBM.

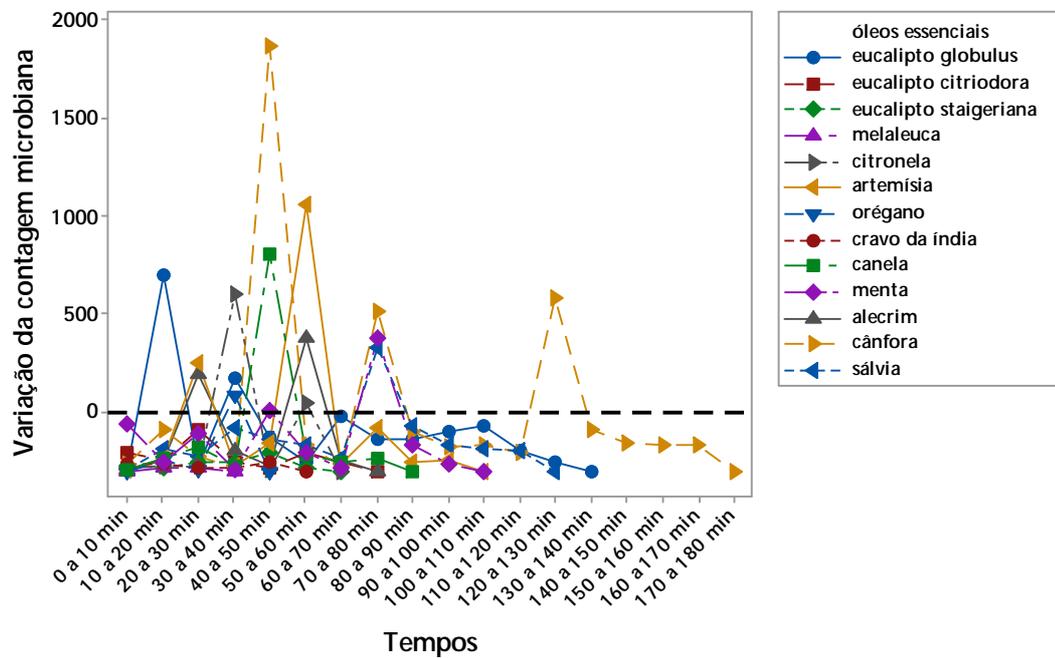


Figura 23: Perfil da variação da contagem microbiana em relação aos tempos avaliados.

4. DISCUSSÃO

A espécie *Acinetobacter baumannii*, embora prevalente na natureza e geralmente considerada como comensal da pele humana e do trato respiratório humano, também tem sido associada a doenças infecciosas graves, tais como pneumonia, infecção do trato urinário, endocardite, infecção em feridas, meningite e septicemia. Esse patógeno é encontrado em muitos ambientes de cuidados de saúde e é um colonizador humano muito eficaz em hospitais. A sua ampla gama de resistência a antibióticos torna-o um patógeno nosocomial de sucesso, ameaçando a atual era do antibiótico. A emergência de estirpes resistentes de patógenos bacterianos é fonte de alta morbidade, mortalidade e aumento de custos, tornando seu tratamento muito mais difícil e dispendioso [75,13].

Dada a disseminação da resistência a múltiplos fármacos, o escasso número de antibióticos no desenvolvimento e a falha dos antibióticos existentes na gestão de infecções causado por *Acinetobacter baumannii* multirresistente, tem aumentado o interesse em tratamentos e na descoberta de novas estratégias antibacterianas. Uma dessas estratégias é usar extratos de óleos essenciais que são um reservatório potencial de moléculas antibacterianas eficazes [23].

Os óleos essenciais são compostos naturais, voláteis e complexos, caracterizados por um odor forte. São conhecidos pelas suas propriedades medicinais e ação bactericida e fungicida, podendo ser utilizados na conservação de alimentos e como antimicrobianos, analgésicos, sedativos e anti-inflamatórios. São misturas naturais muito complexas que podem conter cerca de 20 a 60 componentes em concentrações muito diferentes, sendo caracterizados por possuírem dois ou três componentes principais em concentrações bastante altas (20-70%) em comparação com os outros componentes. Geralmente, são estes componentes principais que determinam as propriedades biológicas do óleo essencial [76].

Como a sensibilidade e resistência dos micro-organismos a agentes antimicrobianos são mutáveis, torna-se necessário analisar os padrões de susceptibilidade dos organismos contra agentes antimicrobianos convencionais e avaliar possíveis alternativas.

Assim, a menor concentração de um agente antimicrobiano que inibe o crescimento do organismo é conhecida como a concentração inibitória mínima

(CIM). Os ensaios para se determinar a CIM podem ser realizados em ágar ou em meio líquido. O método tradicional de determinação da CIM é feito por meio da técnica de diluição em meio líquido, onde diluições do agente a testar são incorporadas no meio de cultura em poços de microplacas ou em tubos de cultura. Cada tubo ou poço contém uma concentração diferente do antimicrobiano e é inoculado com o organismo que está sendo testado. Após incubação adequada, a menor concentração que não apresenta crescimento visível a olho nu é considerada como a CIM [70]. Utilizando o método da microdiluição em placa, na presente pesquisa, foi possível determinar a CIM de treze óleos essenciais (Tabela 2). Constatou-se que a CIM variou entre 0,78% e 25%, sendo o óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus*) altamente eficaz no controle de *Acinetobacter baumannii* com CIM de 0,78%, enquanto o óleo de cânfora (*Cinnamomum camphora*) apresentou menor efeito, CIM de 25%.

A eficácia do óleo de citronela e do citral (componente principal) foi verificada por Adukwu et al. [17], que obtiveram CIM de 0,25 e 1% para óleo, enquanto para a citral oscilou entre 0,06 e 0,25%. Esses autores afirmam que a capacidade de o óleo essencial citral em inibir e matar *Acinetobacter baumannii* multirresistente destaca seu potencial para uso no tratamento de infecções provocadas por essa bactéria. No entanto salientam que a citotoxicidade *in vitro* sugere que são necessários mais testes antes da exposição humana *in vivo* ou *ex vivo*.

As características importantes responsáveis pela ação antimicrobiana dos óleos essenciais incluem componentes hidrofóbicos que permitem a participação de lipídios da membrana celular bacteriana, o que altera as estruturas celulares e as torna mais permeáveis [21]. Segundo Silva e Fernandes Júnior [16], concentrações diferentes de eugenol podem inibir a produção de amilase e protease, promover a degradação da parede celular e a lise celular em algumas bactérias. Na presente pesquisa, o óleo de cravo-da-Índia, cujo componente principal é o eugenol, apresentou atividade antimicrobiana na concentração de 12,5% (Tabela 2).

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de eucalipto pode estar associada à presença de 1,8-cineol, linalol, pinocarveol e limoneno. Outros componentes presentes em quantidades inferiores, tais como α -terpineol e terpinen-4-ol, também podem contribuir para a atividade antimicrobiana do óleo [28,77]. A

eficácia do óleo de eucalipto *staigeriana* no controle de *Acinetobacter baumannii* foi verificada na concentração de 1,56% (CIM) e CBM 3,12 (Tabela 2). Esse resultado pode estar associado ao limoneno, componente principal do óleo utilizado na pesquisa (Tabela 1).

Os óleos de eucalipto *globulus* e eucalipto citriodora apresentaram CIM de 12,5% e 6,25%, respectivamente, considerados menos eficientes (Tabela 2). Damjanović-Vratnica et al. [11] também verificaram atividade antimicrobiana do óleo essencial de eucalipto, especialmente contra *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* e *Klebsiella pneumoniae*.

Estudo realizado por Nickavar et al. [78] revela que compostos de algumas espécies de *Mentha* (*M. longifolia* (L.) Huds., *M. piperita* L., *M. pulegium* L., *M. rotundifolia* (L.) Huds. e *M. spicata* L.) possuem propriedades antioxidantes, que podem estar relacionados às suas composições fitoquímicas. Na presente pesquisa, verificou-se alta atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Mentha piperita* L., apresentando CIM de 3,12% (Tabela 2), cujos componentes principais foram l-mentol (33%), mentona (30%), acetato de metila (4%) e eucaliptol (6%).

Sienkiewicz et al. [24] determinaram as propriedades antibacterianas dos óleos essenciais de canela, lavanda e gerânio contra bactérias do gênero *Acinetobacter baumannii*, isoladas de vários materiais clínicos e do ambiente hospitalar. Verificaram que o óleo de canela foi o mais ativo contra as cepas clínicas e ambientais de *Acinetobacter baumannii* com valores de CIM variando de 0,5 a 2,5 µL/mL. A atividade antimicrobiana do óleo de canela foi considerada intermediária, CIM de 12,5% (Tabela 2). A eficácia do óleo de canela pode estar associada ao aldeído cinâmico (81%, Tabela 1), o qual, segundo Mayuad et al. [79], apresenta alta atividade antimicrobiana contra cepas clínicas Gram-positivas e Gram-negativas.

Segundo Boukhraz et al. [9], o efeito de um agente antimicrobiano também pode ser expresso como a taxa de morte para uma determinada concentração de agente sob condições controladas (cinética bactericida dos óleos essenciais). Essa taxa é determinada pela medição do número de bactérias viáveis em intervalos de tempo diferentes. A representação gráfica resultante é conhecida como “curva de morte”.

Pela utilização da cinética bactericida dos óleos essenciais, verificou-se que os óleos essenciais de *melaleuca* (CBM 6,25%), orégano (CBM 12,5%) e cravo-da-índia (CBM 12,5%), em suas concentrações bactericidas mínimas, apresentaram maior eficácia, pois anularam a carga microbiana de *Acinetobacter baumannii* em até 60 minutos.

Os óleos essenciais de cânfora, eucalipto *globulus* e sálvia apresentaram menor eficácia nas suas respectivas concentrações bactericidas mínimas, pois anularam a carga microbiana em 180, 140 e 130 minutos, respectivamente (Tabelas 4 e 5).

A atividade antimicrobiana do óleo de orégano provavelmente está relacionada com alguns dos componentes principais, como carvacrol, cuja concentração foi de 71% associado a timol, gama-terpineno, para-cimeno presentes em menor quantidade (Tabela 1).

Os resultados de vários estudos indicaram que os efeitos antioxidantes e antimicrobianos do óleo essencial de orégano podem estar relacionados aos componentes principais, o carvacrol, timol, linalol, gama-terpineno, para-cimeno e terpineno-4-ol [15,80,81,82]. Esses autores afirmam que o óleo essencial de orégano apresenta uma potente atividade antimicrobiana contra *Acinetobacter baumannii* multirresistente quando utilizado individualmente ou em combinação com antibióticos.

Sakkas et al. [83] avaliaram óleos de camomila, orégano, *melaleuca*, tomilho e manjerição sobre *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, e verificaram que os óleos apresentaram efeito antibacteriano variável, enquanto o óleo de camomila não demonstrou atividade antibacteriana. Orégano, tomilho e manjerição foram ineficazes em isolados *P.aeruginosa*. Os valores mínimos de concentração inibitória (CIM) e concentração bactericida mínima variaram de 0,12% a 1,50% (v / v) para o óleo de *melaleuca*, 0,25-0,37% (v / v), para o óleo de orégano e tomilho (0,50% a 1,25%). Para óleo de manjerição e >4% para óleo de camomila quando *A. baumannii* foi testada. Esses autores afirmam que as atividades antimicrobianas dos óleos essenciais são influenciadas pela origem da cepa (selvagem, de referência, sensível às drogas ou resistente), a qual deve ser levada em consideração sempre que se investiga o potencial das plantas para o desenvolvimento de novos antimicrobianos.

A atividade antibacteriana, presente contra bactérias multirresistentes utilizando cravo-da-índia e alecrim foi observada por Abdullah et al.[75]. O óleo de cravo foi mais ativo contra os isolados de *Acinetobacter baumannii* e *Enterococcus faecalis* em concentrações de 0,312%, enquanto o óleo de alecrim foi ativo contra *E. faecalis* em concentrações de 5% ou mais. Já *Acinetobacter baumannii* foi sensível a concentrações de 0,312%. Abdullah et al.[84] concluíram que o óleo de cravo é mais potente que o óleo de alecrim, no entanto ambos exibiram elevada atividade antibacteriana podendo ser empregados no tratamento das infecções causadas por bactérias resistentes a múltiplos fármacos

Sienkiewicz et al. [24] sugerem que alguns óleos essenciais poderiam ser empregados na luta contra infecções causadas por bactérias do gênero *Acinetobacter* e como componentes de formulações para a higiene e desinfecção do ambiente hospitalar. No entanto, Yap et al. [85] sugerem que, embora os óleos devam ser utilizados em formas diluídas, especialmente quando aplicados diretamente à pele, as suas propriedades antimicrobianas são tão eficazes quanto aquelas dos agentes antibacterianos químicos. Além disso, é importante que os micro-organismos não adquiram resistência aos óleos essenciais ou aos seus componentes.

5. CONCLUSÃO

A pesquisa poderá colaborar com os estudos da eficácia dos óleos essenciais, em estudos já realizados sobre *Acinetobacter Baumannii*, no Brasil e no mundo. Foi possível observar que 100% dos óleos estudados sugerem ter eficácia no controle da *Acinetobacter baumannii* nas concentrações pesquisadas.

O óleo de citronela, eucalipto e menta, se destacaram como mais eficazes.

Os óleos essenciais de canela, cravo da Índia, eucalipto e orégano, obtiveram as mesmas CIM e CBM.

Dos óleos estudados, seis deles apresentaram o mesmo valor da CBM, são eles: alecrim, canela, cravo da Índia, eucalipto, orégano e sálvia ou seja, demonstram capacidade de eliminação da bactéria com o mesmo tempo.

Os óleos de orégano, de melaleuca e de cravo da Índia apresentaram maior taxa de morte bacteriana, sendo anularam a carga microbiana de *Acinetobacter baumannii* em até 60 minutos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev; 2008; 21 (3): 538 – 582. doi: 10.1128/CMR.00058-07. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2493088/pdf/0058-07.pdf> (acesso 05 jul 2016)
2. Tiwari V, Tiwari M. Quantitative proteomic study carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. Front. Microbiol. 2014; 5: 512. doi: 10.3389/fmicb.2014.00512. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4176082/pdf/fmicb-05-00512.pdf> (acesso 05 jul 2016)
3. Fregolino E, Gargiulo V, Lanzetta R, Parrilli M, Holst O, Castro CD. Identification and structural determination of the capsular polysaccharides from two *Acinetobacter baumannii* clinical isolates, MG1 and SMAL. Carbohydr. Res. 2011; 346 (7): 973–977. doi: 10.1016/j.carres.2011.03.024. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008621511001364> (acesso 04 set 2016)
4. Gentile V, Frangipani E, Bonchi C, Minandri F, Runci F, Visca P. Iron and *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. Pathogens. 2014; 3(3):704-719. doi:10.3390/pathogens3030704. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4243436/pdf/pathogens-03-00704.pdf> (acesso em 04 set 2016)
5. Lee HW; Koh YM; Kim J; Lee JC; Lee YC; Seol S; Cho, DT; Kim J.. Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces. Clin. Microbiol. Infect. 2008; 14 (1): 49–54. doi:10.1111/j.1469-0691.2007.01842.x. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14606455> (acesso em 04 set 2016)
6. Wroblewska MM, Sawicka-Grzelak A, et al.. Biofilm production by clinical strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from patients hospitalized in two tertiary care hospitals. FEMS Immunol Med Microbiol. 2008; 53:140-4. Disponível em: <http://femsim.oxfordjournals.org/content/femsim/53/1/140.full.pdf> (acesso em 06 set 2016)
7. McConnell MJ; Luis Actis L; Pachón J. *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. FEMS Microbiol. Rev. 2013; 37: 130–155. doi: 10.1111/j.1574-6976.2012.00344.x. Disponível em: <http://femsre.oxfordjournals.org/content/femsre/37/2/130.full.pdf> (acesso em 06 set 2016)
8. Pérez-Llarena FJ, Bou G.. Proteomics as a tool for studying bacterial virulence and antimicrobial resistance. Front. Microbiol. 2016; 7:1-21, A.410.

- doi:10.3389/fmicb.2016.00410. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4814472/pdf/fmicb-07-00410.pdf> (acesso em 30 set 2016)
9. Boukhraz A, Elhartiti H, Barrahi M, Sedki H, Saouide el Ayne N, Lakhrissi B, Rhaiem N, Ouhssine M. .Evaluation of the Bacteriostatic and Bactericidal Activity of Essential Oil of *Thymus Satureioides*.Int. J. Res. Studies Science, Eng. Tech. 2016; 3 (3): 24-28
10. Tiwari V, Tiwari M. Phosphoproteomics a san emerging we a ponto develop new antibiotics against carbapenem resistants strain of *Acinetobacter baumannii*. J.Proteomics. 2015; 112,336–338. doi:10.1016/j.jprot.2014. 09.008. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874391914004230> (acesso em 30 set 2016)
11. Dijkshoorn L, van Aken L, Shunburne L, van der Reijden TJK, Bernards AT, Nemec A, Towner KJ.. Prevalence of *Acinetobacter baumannii* and other acinetobacter spp in faecal samples from non-hospitalised individuals. Clin Microbiol Infect.2005; 11: 329-332. doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01093.x. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14622461> (acesso em 02 out 2016)
12. Playford E, Craig J, Iredell J. . Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in intensive care unit patients: risk factors for acquisition, infection and their consequences. J Hosp Infect; 2007; 6; 5(3): 204-211. doi: [10.1016/j.jhin.2006.11.010](https://doi.org/10.1016/j.jhin.2006.11.010). Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670106005093> (acesso 02 out 2016)
13. Tuon FF, Penteado-Filho SR, Amarante D, Andrade MA, Borba LA. Mortality rate in patients with nosocomial *Acinetobacter meningitis* from a Brazilian hospital.Braz. J. Infect. Dis. 2010; 14(5): 437-440. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bjid/v14n5/v14n5a03.pdf> (acesso 22 jul 2016)
14. Gonzalez-Villoria AM;Valverde-Garduno V.. Antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* increasing success remains a challenge as a nosocomial pathogen. Journal of Pathogens, v., Article ID 7318075.2016; 10. doi.org/10.1155/2016/7318075. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4757776/pdf/JPATH2016-7318075.pdf> (acesso em 22 jul 2016)
15. Miyasaki Y, Rabenstein JD, Rhea J, Crouch M-L, Mocek UM, et al. Isolation and Characterization of Antimicrobial Compounds in Plant Extracts against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. PLoS ONE.2013; 8(4): e61594. doi:10.1371/journal.pone.0061594. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3632535/pdf/pone.0061594.pdf> (acesso em 22 jul 2016)

16. Silva NCC; Fernandes Júnior A.. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *J. Venom. Anim. Toxins*.2010; 16 (3): 402-413. Disponível em:<http://www.scielo.br/pdf/jvatitd/v16n3/a06v16n3.pdf> (acesso 05 jul 2016)
17. Adukwu, EC; Bowles, M;Edwards-Jones, V; Bone, H.. Antimicrobial activity, cytotoxicity and chemical analysis of lemongrass essential oil (*Cymbopogon flexuosus*) and pure citral. *Appl Microbiol Biotechnol*.2016; 100(22): 9619–9627
doi: 10.1007/s00253-016-7807-y. Disponível em:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5071368/pdf/253_2016_Article_7807.pdf (acesso 02 jul 2016)
18. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M.. Biological effects of essential oils-a review. *Food Chem Toxicol*. 2008; 46: 446-475. Disponível em:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691507004541> (acesso 04 set 2016)
19. Langeveld WT, Veldhuizen EJ, Burt SA. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. *Crit Rev. Microbiol*.2013; 40(1): 76-94. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23445470> (acesso 04 set 2016)
20. Saviuc, C; Gheorghe, M ; Coban, S; Drumea, V; Chifiriuc, MC; Banu, O; Bezirtzoglou, E; Lazăr, V. *Rosmarinus Officinalis* Essential Oil and Eucalyptol Act as Efflux Pumps Inhibitors and Increase Ciprofloxacin Efficiency against *Pseudomonas Aeruginosa* and *Acinetobacter Baumannii* MDR Strains. *Rom Biotechnol Lett*,2016; 21(4):11782-11790. Disponível em: http://www.rombio.eu/rbl4vol21/20_Saviuc.pdf (acesso em 10 out 2016)
21. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int J Food Microbiol*. 2004; 94(3):233-53. Disponível em:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160504001680> (acesso em 10 out 2016)
22. Damjanović-Vratnica B; Đakov T;Šuković D.; Damjanović J.. Antimicrobial Effect of Essential Oil Isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. from Montenegro. *Czech J. Food Sci*. 2011; 29(3): 277–284
23. Montagu A, Saulnier P, Cassissa V, Rossines E, Eveillard M, Joly-Guillou ML.. Aromatic and terpenic compounds loaded in lipidic nanocapsules: activity against multi-drug Resistant *Acinetobacter baumannii* Assessed *in vitro* and in a murine model of sepsis. *J Nanomed Nanotechnol*. 2014; 5: 206. doi: 10.4172/2157-7439.1000206. Disponível em: <https://www.omicsonline.org/open-access/aromatic-terpenic-compounds-lipidic-nanocapsules-activity-multidrug-resistant-acinetobacter-baumannii-in-vitro-murine-model-2157-7439-5-206.pdf> (acesso 10 out 2016)
24. Sienkiewicz M; Głowacka A;Kowalczyk E; Wiktorowska-Owczarek A; Józwiak-Bębenista M; Łysakowska M.. The biological activities of Cinnamon, Geranium and

- Lavender essential oils. *Molecules*. 2014; 19(12): 20929-20940; doi:10.3390/molecules191220929. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1420-3049/19/12/20929> (acesso 10 out 2016)
25. Tiwari V, Roy R, Tiwari M. Antimicrobial active herbal compounds against *Acinetobacter baumannii* and other pathogens. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 1-11. A.618. doi: 10.3389/fmicb.2015.00618. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4471432/pdf/fmicb-06-00618.pdf> (acesso em 10 out 2016)
26. Taherkhani, M. Chemical Investigation and Protective Effects of Bioactive Phytochemicals from *Artemisia ciniformis* Iran. *J. Chem. Chem. Eng.* 2016; 35(2): 471-481. Disponível em: http://www.ijcce.ac.ir/article_19371_f35c19e2e7f813bf54339cd3f52a921c.pdf (acesso 24 out 2016)
27. Tutar U; Çelik C; Karaman I; Ataş M; Hepokur C. Anti-biofilm and antimicrobial activity of *Mentha pulegium* L essential oil against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Trop J Pharm Res.* 2016; 15 (5): 1039-1046 doi.org/10.4314/tjpr.v15i5.20. Disponível em: <http://www.ajol.info/index.php/tjpr/article/view/136358/125849> (acesso 24 out 2016)
28. Viljoen A, Vuuren SV, Ernst E, Klepser M, Demirci B, Baser H, Wyk BEV.. *Osmitopsis asteriscoides* (Asteraceae) – the antimicrobial and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. *Journal of Ethnopharmacology*, 2003; (88): 137–143. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12963133> (acesso 24 out 2016)
29. Gusatti C S, Ferreira A E, Fuentefria D B, Corcao G. Resistência a β -lactâmicos em *Acinetobacter* spp isolados de efluente hospitalar no sul do Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2009; 42(2): 183-187. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822009000200018 (acessado em 26 jun 2016).
30. Feitosa M S, Zandonadi F N, Almeida C N, Santos T C M M. ACINETOBACTER BAUMANNII: resistência a antimicrobianos utilizados em uma Unidade de Terapia Intensiva. In: Anais do X Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VI Encontro Latino Americano de Pós-graduação Universidade do Vale do Paraíba; 2006 19-20 out; São José dos Campos, SP; Urbanova: CEPLADE; 2007, 1:6. Disponível em: http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2011/anais/arquivos/0003_0013_01.pdf (acesso 26 jun 2016)
31. DIOMEDI P. Infecciones por *Acinetobacter baumannii* pan-resistente: Consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado. *Rev. chil. infectol.* Santiago. 2005; v. 22(4): 298-320. Disponível em: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182005000600003&lng=es&nrm=iso (acesso 26 jun 2016)

32. Lemos E , Restrepo F, Alvis N, Quevedo E, Cañon O, León Y. Mortalidad por *Acinetobacter baumannii* en unidades de cuidados intensivos en Colombia. *Rev Panam Salud Publica*. 2011, vol.30(4): 287-294. ISSN 1680-5348. Disponível em: <http://www.scielo.org/pdf/rpsp/v30n4/v30n4a01.pdf>. (acesso 26 jun 2016)
33. Raka L, Kalenć S, Bosnjak Z, Budimir A, Katić S, Sijak D, Mulliqi-Osmani G, Zoutman D, Jaka A. Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* in central intensive care unit in Kosova teaching hospital. *Braz J Infect Dis*. 2009; vol.13(6): 408-413. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20464330>. (acesso em 26 jun 2016)
34. Darcy E, Cohen B, Liu J, Larson E. Risk factors for hospital-acquired antimicrobial-resistant infection caused by *Acinetobacter baumannii*. *List Antimicrob Resist Infect Control*, 2015; 4:40. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4600331/>. (acesso em 26 jun 2016)
35. Vieira P B, Picoli S U. *Acinetobacter baumannii* Multirresistente: Aspectos Clínicos e Epidemiológicos, *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*. 2015; 19(2):151-156 2015. DOI: 10.4034/RBCS.2015.19.02.10. Disponível em: <http://periodicos.ufpb.br/ojs/index.php/rbcs/article/view/23055> (acesso 26 jun 2016).
36. Pradatrujillo G. *Acinetobacter baumannii*: problemático y además multirresistente. *Rev. Infect.* 2006; 10(2):61-63. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922006000200001 (acesso em 26 jun 2016).
37. Romanelli R MC, Jesus L A, Clemente W T, Lima S S S, Rezende E M, Rosane Coutinho R L, Moreira R L F, Neves F A C, Brás N J. Outbreak of Resistant *Acinetobacter baumannii* – Measures and Proposal for Prevention and Control. *BJID*. 2009; 1: 341-347. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bjid/v13n5/v13n5a05.pdf> (acesso 05 jul 2016)
38. Martins A F, Barth A L. *Acinetobacter* multirresistente – um desafio para a saúde pública. *Sci Med*. 2013; 23(1): 56-62. Disponível em: <file:///C:/Users/yffdr/Downloads/Dialnet-MultidrugresistantAcinetobacterAChallengeForPublic-5662005.pdf> (acesso 05 jul 2016)
39. Guimarães A C, Donalizio M R, Santiago T H R, Freire J B. Óbitos associados à infecção hospitalar, ocorridos em um hospital geral de Sumaré-SP. *Revista Brasileira Enfermagem*. 2011; 64(5):864-869. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-71672011000500010 (acesso 05 jul 2016)
40. Lourenzi H, Matos F J A. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum; 2002.1: 71,261.
41. Silva M T N, Ushimaru P I, Barbosa L N, Cunha M L R S, Fernandes J A. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de

Staphylococcus aureus e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos

humanos. Revista Brasileira Plantas Mediciniais. 2009, vol.11, n.3, pp.257-262. ISSN 1516-0572.

Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722009000300005> (acesso 19 jan 2017)

42.Lourenzi H, Matos F J A. Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum; 2002.1: 268,355.

43. Mazzafera P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. Revista Brasileira de Botânica. 2003, vol.26, n.2, pp.231-238. ISSN 0100-8404. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-84042003000200011> (acesso 19 jan 2017)

44. Farag R S, Shalaby A S, El-Baroty G A, N Ibrahim A, Ali M A, Hassan E M. Chemical and Biological Evaluation of the Essential Oils of Different *Melaleuca* Species. Published Phytotherapy. 2004, vol. 18, 30–35.DOI: 10.1002/ptr.1348.

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14750197>> (acesso 20 jan 2017)

45. Disponível em: <<http://www.kew.org/science-conservation/plants-fungi/melaleuca-alternifolia-tea-tree>>(acesso em 02 nov 2016)

46. Lourenzi H, Matos F J A. Plantas Mediciniais no Brasil: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum; 2002; 1:255,512.

47. Silva J P L, Duarte-Almeida J M, Perez D V, Franco B D G M. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella* Enteritidis. Ciências Tecnologia dos Alimentos. 2010, vol.30, suppl.1, pp.136-141. ISSN 0101-2061. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612010000500021>>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612010000500021>(acesso 20 jan 2017)

48.Amaral ACF, Simões EV, Ferreira JLP. Coletânea Científica de Plantas de Uso Medicinal. 1ª Ed. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2005. 70-71.

49. OH S, Kim J, Kim C, Yi S S, Kim S, Park S. *Artemisia annua* increases resistance to heat and oxidative stresses, but has no effect on lifespan in *Caenorhabditis elegans*. Food Science. Technol (Campinas) .2016, vol.36, n.2, pp.356-361.

Epub May 31, 2016. ISSN 0101-2061. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.0115>. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612016000200356>(acesso 22 jan 2017)

50. Cansian R L, Mossi A J, Oliveira D, Toniazzo G, Treichel H, Parouln, Astolfi V, Serafini L A. Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. *Linaloolifera fujita*). Ciências Tecnologia dos Alimentos. 2010, vol.30, n.2, pp.378-384. ISSN 0101-2061. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612010000200014>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612010000200014>(acesso 20 jan 2017)
51. Amaral A C F, Simões E V, Ferreira J L P. Coletânea Científica de Plantas de Uso Medicinal. 1ª Ed. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2005. 196 -197.
52. Silveira S M, Cunha Jr A, Scheuermann G N, Secchi F L, Verruck Si, Krohn M, Vieira C R W. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Eucalyptus paniculata* (eucalipto) e *Lavandula angustifolia* (lavanda). Revista do Instituto Adolfo Lutz, [S.l.], v. 71, n. 3, p. 471-480, mar. 2012. ISSN 1983-3814. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/rialutz/article/view/5257>>. (acesso 12 fev 2017)
53. Lourenzi H, Matos F J A. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum; 2002. 520.
54. Lourenzi H, Matos F J A. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum; 2002. 266.
55. Kassuya C A L, Wisniewski Jr. A, Simionatto E L, Santos E P, Stefanello M É A. Composição dos Óleos Essenciais de *Salvia lachnostachyse* S. melissiflora (*Lamiaceae*). Latin American Journal of Pharmacy (formerly Acta Farmacéutica Bonaerense) Lat. Am. J. Pharm. 28(6): 919-21 (2009). C.P. 19081, 81.530-900, Curitiba, PR, Brasil. Disponível em: <<http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/7855>>(acesso 25 jan 2017).
56. Amaral A C F, Simões E V, Ferreira J L P. Coletânea Científica de Plantas de Uso Medicinal. 1ª Ed. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2005. 592-593.
57. Blank A F, Costa A G, Arrigoni-Blank M F, Cavalcanti S C H, Alves P B, Innecco R, Ehlert P A D, Sosal F. Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) volatile oil. Revista Brasileira de Farmacologia. 2007, vol.17, n.4, pp.557-564. ISSN 0102-695X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2007000400014>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2007000400014> (acesso em: 25 jan 2017)
58. Olivo C J, Carvalho N M, Silva J H S S, Vogel F F, Massariol P V, Meinerz G, Agnolin C, Farias A M, Viau L V. Óleo de citronela no controle do carrapato de

bovinos.Cienc. Rural. 2008; 38(2):406-410. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v38n2/a18v38n2.pdf>. (acesso 05 jul 2016)

59. Rodrigues C R, Faquin V, Trevisan D, Pinto J E B P, Bertolucci S K V, Rodrigues T M. Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e épocas de coleta. Horticultura Brasileira. 2004, vol.22, n.3, pp.573-578. ISSN 0102-0536.

<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362004000300014>. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362004000300014> (acesso 30 jan 2017)

60. Amaral A C F, Simões E V, Ferreira J L P. Coletânea Científica de Plantas de Uso Medicinal. Ed. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2005; 1:248,396.

61. Bizzo H R, Hovell AM C, Rezende C M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. Química Nova. 2009; 32(3):588-594. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422009000300005. (acesso 08 jul 2016)

62. Lima I O, Oliveira R A G, Lima E O, Farias N M P, Souza E EL. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy. 2006; 16(2): 197-201. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v16n2/v16n2a11.pdf>. (acesso 08 jul 2016)

63. Miranda C A S F, Cardoso M G, Batista L Z, Rodrigues L M A, Figueiredo A CS. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. Revista Ciência Agronômica. 2016; 47(1): 213-220. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-66902016000100213 (acesso em 20 ago 2016).

64. Guerra F Q S, Mendes J M, Oliveira W A, Rodrigues L A S, Santos B H C S, Lima E O. Atividade Antibacteriana de Óleos Essenciais de Especiarias Sobre Cepas de *Acinetobacter baumannii* SPP. Multidrogas-Resistentes. Revista de Biologia e Farmácia - BIOFAR. 2012; 7(1): 1-10. Disponível em: http://sites.uepb.edu.br/biofar/download/v7n1-2012/atividade_antibacteriana_de_oleos_essenciais_de_especiarias_sobre_cepas_de_acinetobacter_spp.pdf. (acesso em 25 ago 2016).

65. Silveira S M, Cunha A, Scheuermann G N, Secchi F L, Krohn S V M, Vieira C R W. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Eucalyptus paniculata* (eucalipto) e *Lavandula angustifolia* (lavanda). Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.). 2012; 71(3): 462-470. Disponível em: http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552012000300006&lng=pt&nrm=iso (acesso 31 ago 2016).

66. Miranda C A S F, Cardoso M G, Batista L Z, Rodrigues L M A, Figueiredo A CS. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. Revista Ciência Agronômica. 2016; 47(1): 213-220. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-66902016000100213 (acesso em 31 ago 2016).
67. Moreira R D, Macena Leão D M M, Silveira Barreto J R S B, Junior A M O, Santos J A B, Moreira J J S. Um Olhar Sobre a Pesquisa Com Óleos Essenciais no Brasil a Partir da Base de Dados Scielo. Proceeding of ISTI/SIMTEC – ISSN:2318-3403 Aracaju/SE – 24 a 26/09/2014; 2(1):104-110. D.O.I.: 10.7198/S2318-3403201400020013
68. FREIRE, I.C.M. et al. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. Revista Brasileira Plantas Mediciniais. 2014; 16(2), suppl.1:372-377. ISSN 1516-0572. http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/12_053. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722014000500010 (acesso 31 ago 2016)
69. Del Ré P V, Jorge N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. Rev. bras. plantas med. 2012; 14(2):389-399. ISSN 1516-0572. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722012000200021>. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722012000200021 (acesso 15 nov 2016)
70. CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-second Informational Supplement M100-s22, Wayne, PA.; 2012; 32(3):1-184.
71. Ogbemor N O, Adekunle A T, Enobakhare, DA. Inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sacc. causal organism of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) leaf spot using plant extracts. *Afr. J. Biotechnol.* 2007;6(3): 213-218. Disponível em: <http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/56139> (acesso em: 15 nov 2016)
72. Allahghadri T, Rasooli I, Owlia P., Nadooshan MJ, Ghazanfari T, Taghizadeh M, Astaneh SD. Antimicrobial property, antioxidant capacity and cytotoxicity of essential oil from cumin produced in Iran, *J. Food Sci.* 2010; 75(2): H54-H61. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20492235> (acesso em: 15 nov 2016)
73. Sylvester PW. Optimization of the tetrazolium dye (MTT) colorimetric assay for cellular growth and viability. *Meth. Mol. Biol.*; 2011; 716:157-168. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21318905> (acesso em: 15 nov 2016)
74. Favre B; Hofbauer B; Hildering K; Ryder NS. . Comparison of in vitro activities of antifungal drugs against a panel of 20 dermatophytes by using a microdilution

assay.J. Clin. Microbiol.;2003; 17:41:48. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC254304/> (acesso em: 15 nov 2016)

75.Morgan, DJ, Liang SY, Smith CL, Johnson JK Harris AD, et al.Frequent Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Contamination of Gloves, Gowns, and Hands of Healthcare Workers. Infect Control Hosp Epidemiol. 2010; 31(7): 716-721. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20486855> (acesso em: 15 nov 2015)

76. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils--a review. Food Chem Toxicol. 2008; 46: 446-475. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691507004541> (acesso em: 15 nov 2016)

77. Aggarwal KK, Khanuja SPS., Ahmad A, Kumar TRS, Gupta VK, Kumar S. Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated from the oils of *Mentha spicata* and *Anethum sowa*. Flav. Frag. J.2002 ; (17): 59–63. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ffj.1040/abstract> (acesso em: 28 nov 2016)

78. Nickavar B, Alinaghi A, Kamalinejad M. Res Evaluation of the antioxidant properties of five Mentha species. Iran J Pharm.2008;7(3): 203–209.Disponível em: http://ijpr.sbmu.ac.ir/article_766_51ea64b918fb46ef4b21a10e87ecfd5e.pdf (acesso 28 nov 2016)

79. Mayaud L; Carricajo A; Zhiri A; Aubert,G. Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics. Lett. Appl. Microbiol.2008;(47):167–173. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19552780> (acesso em: 28 nov 2016)

80. Baser KH. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr Pharm Des.*2008; 14(29):3106–3119.Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19075694> (acesso em 28 nov 2016)

81. Al-Janabi KW, Alazawi FN, Ibrahim Mohammed M, Kadhum AA, Mohamad AB.. Chlorophenols in Tigris River and drinking water of Baghdad, Iraq. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2011; 87(2):106–112. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21614445> (acesso em 28 nov 2016).

82. Saghi H, Bahador A, Dastjerdi FA, Asadolahi H, Neyshaboori M,Mohammad, E;Maryam, M.; Esmaili D. Antibacterial Effects of *Origanum vulgare* Essence Against Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolated From Selected Hospitals of Tehran, Iran.Avicenna J Clin Microb Infec. 2015; 2(1): e22982. Disponível em: <http://ajcmicrob.com/22982.fulltext> (acesso em 28 nov 2016).

83. Sakkas H, Gousia P, Economou V, Sakkas V, Petsios S, Papadopoulou C.. *In vitro* antimicrobial activity of five essential oils on multidrug resistant Gram-negative clinical isolates. J. Intercult. Ethnopharmacol.2016; 5(3):212-218. doi:10.5455/jice.20160331064446. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4927124/> (acesso em 28 nov 2016).

84. Abdullah BH, Hatem SF, Jumaa W. A Comparative Study of the Antibacterial Activity of Clove and Rosemary Essential Oils on Multidrug Resistant Bacteria UK J PharmBiosci, 2015; 3(1): 19-22. Disponível em: http://ukjpb.com/article_details.php?id=93 (acesso em 30 nov 2016)

85. Yap PSX; Yiap BC; Ping HC; Lim SHE. Essential Oils, A New Horizon in Combating Bacterial Antibiotic Resistance. Open Microbiol. J. 2014(8):6–14. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3950955/> (acesso em 30 nov 2016)