

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS

CURSO DE FARMÁCIA

ANGEL WAGNER VIEIRA DE OLIVEIRA

**Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de óleos essenciais
frente a microrganismos de importância clínica**

FLORIANÓPOLIS

2021

ANGEL WAGNER VIEIRA DE OLIVEIRA

Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a microrganismos de importância clínica

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Farmacêutico.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jussara Kasuko Palmeiro

FLORIANÓPOLIS

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

de Oliveira, Angel Wagner Vieira

Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a microrganismos de importância clínica / Angel Wagner Vieira de Oliveira ; orientador, Jussara Kasuko Palmeiro, 2021.

84 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Óleo essencial. 3. Aromaterapia. 4. Atividade antimicrobiana. 5. Resistência bacteriana. I. Palmeiro, Jussara Kasuko . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Angel Wagner Vieira de Oliveira

**Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de óleos essenciais
frente a microrganismos de importância clínica**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Bacharel em Farmácia e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 13 de maio de 2021.

Prof^a Dr^a Marení Rocha Farias
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

Prof^a Dr^a Jussara Kasuko Palmeiro, Dr.(a)
Orientadora
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a Dr^a Maique Weber Biavatti, Dr.(a)
Avaliadora
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a Dr^a Maria Luiza Bazzo, Dr.(a)
Avaliadora
Instituição Universidade Federal de Santa Catarina

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço à mim, por ter tido resiliência, persistência, e por mais que tenha sentido vontade de desistir, permaneci firme e forte. Também, agradeço ao universo, aos meus mestres e guias, pelo apoio, pelo amor, pela vida. Agradeço imensamente, à família, aos meus pais, minha mãe por todo apoio e orientação, meu pai por todas as palavras de força. Agradeço ao meu “namorado”, por todas as noites me ajudando com os cálculos e gráficos, pelo apoio, pelo “falta pouco”, pelo amor. Aos meus amigos e colegas de faculdade, que sempre, sempre, estiveram ali. Aos meus amados colegas da Policlínica Centro, que viraram minha família de coração. À Profª Jussara, por todo o auxílio e tempo disponibilizado, principalmente por dispor seus dias pra ir pro laboratório comigo. Aos meus filhos de quatro patas, por todo chamego, amor e lambeijos. À UFSC, e a todos os professores que me ensinaram e me auxiliaram na caminhada. Só agradeço. Por tudo. Pela vida. Pela conclusão de um ciclo. Gratidão.

*“Sempre permaneça aventureiro.
Por nenhum momento se esqueça de que
a vida pertence aos que investigam.
Ela não pertence ao estático;
Ela pertence ao que flui.
Nunca se torne um reservatório,
sempre permaneça um rio.”*

(Osho)

RESUMO

Os óleos essenciais (OEs) compreendem uma combinação de compostos, muito deles voláteis com características aromáticas, provenientes do metabolismo secundário de plantas. Possuem ampla diversidade de propriedades, entre elas antibacteriana, antifúngica, antiviral. Nas últimas décadas tem-se intensificado os estudos para avaliar o potencial da atividade antimicrobiana de uma extensa gama de OEs, identificando compostos específicos, investigando e indicando possíveis usos terapêuticos. Este trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a alguns microrganismos de importância clínica. Foram selecionados dez OEs baseado em evidências de acordo com a prática clínica: *Cymbopogon flexuosus* (Capim-limão), *Copaifera officinalis* (Copaíba), *Ocimum basilicum* (Manjeriço), *Origanum majorana* (Manjerona), *Origanum vulgare* (Orégano), *Schinus terebinthifolius* (Pimenta rosa), *Cyperus articulatus* (Pripioca), *Salvia sclarea* (Sálvia esclaréia), *Amyris balsamifera* (Sândalo amyris) e *Thymus vulgaris* (Tomilho). Os OEs foram avaliados frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (linhagens meticilina-resistente (MRSA) USA 400 e meticilina sensível (MSSA) ATCC 29213), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* ATCC 25922 e ATCC 35218, e ao fungo diplóide *Candida albicans* ATCC 14053 através do método disco-difusão. O método de microdiluição em caldo foi realizado para os OEs que apresentaram melhor desempenho no método de disco-difusão para todas as bactérias. Diante disso, foi possível verificar que o OE de *Cymbopogon flexuosus* apresentou valor de CIM de 16 µL/mL para todas as cepas bacterianas exceto *K. pneumoniae* ATCC 700603, que apresentou valor de CIM maior que 16 µL/mL. O OE de *Ocimum basilicum* apresentou valor de CIM maior que 16 µL/mL para *S. aureus* ATCC 29213 e *E. coli* ATCC 25922 e ATCC 35218, obtendo valor de CIM de 16 µL/mL para as demais. O OE de *Origanum majorana* apresentou valor de CIM maior de 16 µL/mL para todas as cepas bacterianas exceto para *K. pneumoniae* ATCC 700603. Os valores de CIM para *Origanum vulgare* e *Thymus vulgaris* foram de 8 µL/mL para todas as cepas bacterianas testadas. Isso demonstra que, os OEs têm potencial para serem estudados como compostos antimicrobianos alternativos e podem ser utilizados também, em formulações naturais, para tratar infecções leves na sua forma isolada ou combinada a outros antibióticos.

Palavras-chave: Óleo Essencial. Antimicrobiano. Plantas Medicinais. Disco-difusão. Concentração inibitória mínima.

ABSTRACT

Essential oils (EOs) comprise a combination of compounds, many of them volatile with aromatic characteristics, derived from secondary plant metabolism. EOs have a wide range of properties, including antibacterial, antifungal, antiviral. Recently, studies have been investigating the potential of antimicrobial activity in a wide range of EOs, identifying specific compounds and indicating possible therapeutic uses. This study aimed at evaluating the *in vitro* antimicrobial activity of EOs against pathogenic microorganisms. Ten evidence-based EOs were selected according to clinical practice: *Cymbopogon flexuosus* (Lemongrass), *Copaifera officinalis* (Copaiba), *Ocimum basilicum* (Basil), *Origanum majorana* (Marjoram), *Origanum vulgare* (Oregano), *Schinus terebinthifolius* (Pink pepper), *Cyperus articulatus* (Pripricoa), *Salvia sclarea* (Sage), *Amyris balsamifera* (Sandalwood amyris) and *Thymus vulgaris* (Thyme). The EOs were evaluated against *Staphylococcus aureus* (methicillin-resistant strains (MRSA) USA 400 and sensitive methicillin (MSSA) ATCC 29213), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Escherichia coli* ATCC 25922 and ATCC 35218, and the diploid fungus *Candida albicans* ATCC 14053 through the disk-diffusion method. The broth microdilution method was performed for EOs that had the best performance in the disk-diffusion method for all microorganism. Therefore, it was possible to verify that the EO of *Cymbopogon flexuosus* had a MIC value of 16 $\mu\text{L}/\text{mL}$ for all bacterial strains except *K. pneumoniae* ATCC 700603 where it showed a MIC value greater than 16 $\mu\text{L}/\text{mL}$. The EO of *Ocimum basilicum* had a MIC value greater than 16 $\mu\text{L}/\text{mL}$ for *S. aureus* ATCC 29213 and *E. coli* ATCC 25922 and ATCC 35922, obtaining a MIC value of 16 $\mu\text{L}/\text{mL}$ for the others bacteria. The EO of *Origanum majorana* showed MIC value greater than 16 $\mu\text{L}/\text{mL}$ for all bacterial strains except for *K. pneumoniae* ATCC 700603. The MIC values for *Origanum vulgare* and *Thymus vulgaris* were both of 8 $\mu\text{L}/\text{mL}$ for all tested bacterial strains. This demonstrates that EOs have the potential to be studied as alternative antimicrobial compounds and can also be used, in natural formulations, to treat mild infections in their isolated form or in combination with other antibiotics.

Keywords: Essential Oil. Antimicrobial. Medicinal plant. Disk diffusion. Minimum inhibitory concentration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração esquemática do procedimento do método de disco-difusão.....	20
Figura 2 – Ilustração esquemática do procedimento do método de microdiluição em caldo e preparo do inóculo bacteriano.....	23
Figura 3 – Ilustração esquemática do mapa da placa de 96 poços na sua disposição final.....	25
Figura 4 – Imagens das placas com discos de antibióticos para controle de qualidade do método de disco-difusão.....	27
Figura 5 – Gráfico de resultados do teste de disco-difusão.....	28
Figura 6 – Gráfico do resultado de disco-difusão do OE de <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Capim-limão).....	32
Figura 7 – Gráfico do resultado de disco-difusão do OE de <i>Ocimum basilicum</i> (Manjericão).....	33
Figura 8 – Gráfico do resultado de disco-difusão do OE de <i>Origanum majorana</i> (Manjerona).....	34
Figura 9 – Gráfico do resultado de concentração inibitória mínima do OE de <i>Origanum vulgare</i> (Orégano).....	35
Figura 10 – Gráfico do resultado de concentração inibitória mínima do OE de <i>Thymus vulgaris</i> (Tomilho).....	36
Figura 11 – Gráfico do resultados de disco-difusão comparados com resultados de CIM para OE de <i>Cymbopogon flexuosus</i> (Capim-limão).....	37
Figura 12 – Gráfico do resultados de disco-difusão comparados com resultados de CIM para OE de <i>Ocimum basilicum</i> (Manjericão).....	38
Figura 13 – Gráfico do resultados de disco-difusão comparados com resultados de CIM para OE de <i>Origanum majorana</i> (Manjerona).....	39

Figura 14 – Gráfico do resultados de disco-difusão comparados com resultados de CIM para OE de <i>Origanum vulgare</i> (Orégano).....	40
Figura 15 – Gráfico do resultados de disco-difusão comparados com resultados de CIM para OE de <i>Thymus vulgaris</i> (Tomilho).....	41
Figura 16 – Gráfico do resultados de disco-difusão comparados aos resultados de CIM para todos os OEs.....	42

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Recomendação de diluição dos óleos essenciais separados por área do corpo e/ou finalidade.....	9
Quadro 2 – Patógenos mais comuns em infecções comunitárias e hospitalares.....	13
Quadro 3 – Óleos essenciais selecionados e suas características.....	16
Quadro 4 – Óleos essenciais selecionados em ordem alfabética, seus respectivos nomes científicos, famílias e fitoconstituintes.....	43

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Resultados do teste de disco-difusão classificados pela sensibilidade.....	29
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μL – Microlitro

ATB – Antibiótico

ATCC – American Type Culture Collection

CIM – Concentração Inibitória Mínima

DD – Disco-difusão

EO – Essential oil

MHA – Mueller Hinton Agar

MHB – Mueller Hinton Broth

mL – Mililitro

MIC – Minimum inhibitory concentration.

MO – Microrganismo

OE – Óleo Essencial

OMS – Organização Mundial da Saúde

UFC – Unidades formadoras de colônias

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	4
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS.....	4
2.1.1 HISTÓRICO	4
2.1.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	6
2.1.3 FORMAS DE UTILIZAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	7
2.1.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	10
2.2 PROBLEMÁTICA DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA.....	11
2.3 MICRORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA.....	12
3. OBJETIVOS	14
3.1 OBJETIVO GERAL	14
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
4. MATERIAIS E MÉTODOS	14
4.1 REVISÃO DA LITERATURA PARA SELEÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	14
4.2 SELEÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	15
4.3 SELEÇÃO DAS CEPAS DOS MICRORGANISMOS	17
4.4 MÉTODO DE DISCO-DIFUSÃO	17
4.4.1 PREPARO DO INÓCULO BACTERIANO	18
4.4.2 LEITURA DOS HALOS DE INIBIÇÃO.....	19
4.5 MÉTODO DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO	20
4.5.1 PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE DE CEFTRIAXONA.....	20
4.5.2 PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE DE OE	22
4.5.3 PREPARO DO INÓCULO	23
4.5.4 PREPARO DAS PLACAS DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO	24
4.5.5 LEITURA DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA	26

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 TRIAGEM DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA PELO MÉTODO DE DISCO-DIFUSÃO.....	26
5.1.2 PERFIS DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA AOS ÓLEOS ESSENCIAIS NO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO.....	27
5.1.2.1 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE <i>Cymbopogon flexuosus</i>	30
5.1.2.2 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE <i>Ocimum basilicum</i>	30
5.1.2.3 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE <i>Origanum majorana</i> ...30	
5.1.2.4 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE <i>Origanum vulgare</i>	30
5.1.2.5 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE <i>Thymus vulgaris</i>	31
5.2 PERFIS DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA AOS ÓLEOS ESSENCIAIS NO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO.....	31
5.2.1 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE <i>Cymbopogon flexuosus</i>	32
5.2.2 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE <i>Ocimum basilicum</i>	32
5.2.3 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE <i>Origanum majorana</i>	33
5.2.4 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE <i>Origanum vulgare</i>	35
5.2.5 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE <i>Thymus vulgaris</i>	36
5.3 COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS DOS TESTES DE DISCO-DIFUSÃO E MICRODILUIÇÃO EM CALDO.....	36
5.3.1 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE <i>Cymbopogon flexuosus</i> NOS TESTES.....	36

5.3.2 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE <i>Ocimum basilicum</i> NOS TESTES.....	37
5.3.3 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE <i>Origanum majorana</i> NOS TESTES.....	38
5.3.4 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE <i>Origanum vulgare</i> NOS TESTES.....	39
5.3.5 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE <i>Thymus vulgaris</i> NOS TESTES.....	40
6. CONCLUSÃO	45
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
8. APÊNDICES	56
8.1 APÊNDICE A – QUADRO DE REVISÃO DOS OEs COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DESCRITA	56
8.2 APÊNDICE B – IMAGENS DO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO: <i>Cymbopogon flexuosus</i>	49
APÊNDICE C – IMAGENS DO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO: <i>Ocimum basilicum</i> ...	50
APÊNDICE D – IMAGENS DO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO: <i>Origanum majorana</i>	51
APÊNDICE E – IMAGENS DO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO: <i>Origanum vulgare</i>	52
APÊNDICE F – IMAGENS DAS PLACAS DO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO: <i>Thymus vulgaris</i>	52
APÊNDICE G – IMAGENS DO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO: <i>Cymbopogon flexuosus</i>	53
APÊNDICE H – IMAGENS DO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO: <i>Ocimum basilicum</i>	54
APÊNDICE I – IMAGENS DAS PLACAS DO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO: <i>Origanum majorana</i>	55
APÊNDICE J – IMAGENS DO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO: <i>Origanum vulgare</i> E CONTROLE DO MÉTODO	56

APÊNDICE K – IMAGENS DO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO: <i>Thymus vulgaris</i>	57
---	----

1. INTRODUÇÃO

As plantas são conhecidas por produzirem uma grande variedade de moléculas com propriedades antibióticas. Os óleos essenciais (OEs) são produtos derivados do metabolismo secundário de plantas com função de proteção. Na constituição dos OEs podem ser encontradas cetonas, hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, éteres, ésteres e fenóis, havendo uma maior concentração de derivados de terpenóides ou de fenilpropanóides (SIMÕES et al., 1999).

A Organização Mundial da Saúde publicou em 2017 uma lista contendo os patógenos prioritários para a orientação e promoção da pesquisa e desenvolvimento de novos antimicrobianos. *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenem, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenem, *Enterobacterales* resistente a carbapenem e produtores de beta-lactamases de espectro estendido (ESBL) foram listados como prioridade crítica (OMS, 2017). A resistência aos microrganismos infecciosos é uma ameaça crescente à saúde pública, especialmente pela rápida disseminação mundial de bactérias multirresistentes que causam infecções comuns e resistem ao tratamento com antibióticos utilizados na clínica (OMS, 2017).

A pesquisa de compostos antimicrobianos de origem natural é de grande importância devido ao constante surgimento dos microrganismos resistentes aos fármacos antimicrobianos já utilizados. Nesse contexto da sociedade moderna, investigar o potencial antimicrobiano de substâncias naturais pode contribuir com o aparecimento de novas opções terapêuticas para o tratamento de infecções bacterianas e fúngicas (OLIVEIRA et al., 2007).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

2.1.1 HISTÓRICO

O termo óleo essencial (OE) foi definido no século XVI por Paracelso, médico alquimista suíço, que usava vapor para isolar substâncias que continham o aroma da planta. Paracelso dizia que o componente efetivo de uma droga era a “sua alma” ou também chamada “quinta essência” (PROBST, 2012). Segundo MILLER (1991), é difícil datar com precisão a primeira extração por destilação de óleos essenciais. O

autor cita que o objetivo das primeiras destilações realizadas teria sido a obtenção do álcool de vinho, o chamado “espírito”, ainda na época pós dilúvio, há 7,6 mil anos. Os óleos essenciais eram muito utilizados pelos egípcios em massagens de embelezamento, para proteger a pele do clima seco e para evitar a decomposição dos cadáveres no processo de mumificação (DE LA CRUZ, 1997). Há histórico de que foram encontrados vasos de alabastro em antigas tumbas de faraós que possuíam em seu interior óleos essenciais que datavam mais de 6.000 anos (PRICE, 1994).

A aromaterapia contemporânea veio se desenvolvendo a partir de 1920, através do perfumista e engenheiro químico francês René-Maurice Gattefossé (1881-1950), que por observação percebeu o grande potencial de cura dos óleos essenciais. Ao queimar a mão em um acidente, mergulhou o braço em um tanque de óleo essencial de lavanda. Percebendo a eficácia antisséptica do óleo essencial na ferida, começou a pesquisar a fundo essas substâncias. Criou, a partir da lavanda, o antisséptico “*Le salvo*”, que foi usado de forma ampla nos ambientes hospitalares. Gattefossé é considerado o pai da aromaterapia e o responsável pela criação do termo *Aromathérapie*, usado pela primeira vez em um artigo científico de 1928 (GNATTA, 2016). O referido artigo foi estudado pelo médico francês Jean Valnet (1900-1995) quem descobriu as propriedades antivirais, antibacterianas, antifúngicas, antissépticas e regeneradoras dos óleos essenciais ao usá-los em soldados feridos na segunda guerra mundial. (TISSERRAND, 2017; LAVABRE, 2018). Após isso, na Inglaterra, a enfermeira austríaca Margerite Maury (1895-1968) foi a pioneira na área de aromaterapia holística (NAIFF, 2018). Maury estudou as influências dos OEs, desenvolveu a ideia da prescrição individual, ministrou palestras sobre a farmacologia dos OEs pela Europa e abriu a primeira clínica de aromaterapia em Londres (GNATTA, 2016; BUCKLE, 2019).

Após a década de 1980, a aromaterapia diferenciou-se em quatro vertentes: (i) a aromaterapia médica na qual os OEs são prescritos e utilizados como tratamento; (ii) a holística, que emprega óleos essenciais em terapias na massagem corporal; (iii) a popular, que leva em conta o auto tratamento e a estética, e (iv) o estudo científico da fragrância e seus efeitos psíquicos, conhecida como aromacologia. (GNATTA et al., 2016; SCHNAUBELT, 2019; TISSERRAND, 2017).

Em 21 de março de 2018, com a portaria nº 702, o Ministério da Saúde incluiu a aromaterapia na Política Nacional de Práticas Integrativas Complementares (PICs),

uma vez que é considerada eficaz para a promoção geral do bem-estar e para o tratamento de diversos problemas de saúde incluindo transtornos de humor e declínio cognitivo (HOROWITZ, 2011).

2.1.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

Óleos essenciais são produtos aromáticos e voláteis derivados do metabolismo secundário de plantas, produzidos por células e/ou grupos de células especiais (CONNER, 1993). Apresentam diversas funções necessárias para a sobrevivência da planta, como por exemplo a defesa contra microrganismos nocivos (LIMA et al., 2006).

Esses produtos secundários são caracterizados quimicamente como misturas complexas de compostos de baixo peso molecular, geralmente altamente voláteis, e pouco estáveis na presença de oxigênio, luz, calor, umidade e metais. Os OEs são capazes de gerar aromas e/ou sabores. Fisicamente, se apresentam no estado líquido à temperatura ambiente, não se misturam à água, e podem ser extraídos de diferentes modos, dependendo da localização do óleo na planta, como hidro-destilação, destilação a vapor, CO₂ supercrítico, ou com a utilização de solventes orgânicos. Os OEs podem ser extraídos das folhas, frutas, flores, sementes, cascas, raízes e resinas das plantas (TAVARES, 2007). Devido ao fato de serem de origem natural, são biodegradáveis e tem a capacidade de atuar em várias moléculas-alvo simultaneamente (FIGUEIREDO et al., 2008).

Na constituição dos OEs podem ser encontrados cetonas, hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, éteres, ésteres e fenóis, porém há predominância de uma mistura de derivados de terpenóides ou de fenilpropanóides (SIMÕES et al., 1999).

Quimicamente, os terpenos podem ser definidos como “alcenos naturais”, isto significa que possuem uma dupla ligação carbono-carbono, sendo caracterizados como hidrocarbonetos insaturados (MC MURRY, 2011). Se um terpeno possui um átomo de oxigênio, este é denominado de terpenóide, podendo apresentar diferentes funções químicas, entre as quais: ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, éteres, fenóis ou epóxidos terpênicos.

O timol e seu isômero carvacrol são monoterpenos encontrados em diversas plantas aromáticas, sendo biossintetizados a partir do γ -terpineno e do p -cimeno (NOSTRO & PAPALIA, 2012). Já foi evidenciado que o timol e o carvacrol, assim como

outros terpenos são capazes de causar a desintegração da membrana externa de bactérias gram-negativas, fazendo com que haja liberação de lipopolissacarídeos, o que gera um aumento da permeabilidade e a despolarização da membrana citoplasmática (BURT, 2004).

As atividades antimicrobianas dos monoterpenos também estão atreladas aos seus grupos funcionais. Ultee et al. (2002) realizou um estudo com *Bacillus cereus* e percebeu que o potencial antibacteriano tanto do timol quanto do carvacrol se dá principalmente devido ao grupo hidroxila, que age como um transportador transmembrana de cátions monovalentes conferindo alto poder reativo (ULTEE et al., 2002).

O carvacrol é um monoterpenóide líquido, apresenta característica lipofílica e possui propriedades antibacterianas, antifúngicas (CHAVAN & TUPE, 2014) antioxidantes (MILOS, MAKOTA, 2012) e antitumorais (OZKAN, ERDOGAN, 2011). Devido às propriedades antimicrobianas, o carvacrol passou a ser usado como um conservante natural para alimentos, (MISHRA, SALEHI et al., 2018). Segundo Bnyan et al. (2014) estudos *in vitro* mostraram que o carvacrol desempenhou grande potencial antimicrobiano frente a bactérias gram-positivas e gram-negativas, exceto *Pseudomonas aeruginosa* (BNYAN et al., 2014).

2.1.3 FORMAS DE UTILIZAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Segundo HOARE (2010) a aromaterapia tem efeitos importantes na fisiologia e na química do corpo. Sua ação está consolidada em diferentes níveis do corpo humano: na parte fisiológica, age em processos orgânicos; na parte psicológica, trabalha as emoções e sensações; na parte energética, eleva a frequência vibratória ao comunicar-se com nosso campo energético (NAIFF, 2018; LAVABRE, 2018).

A prática acompanhada por profissional capacitado é sempre recomendada, especialmente para o uso dos óleos essenciais em crianças, idosos, grávidas e pessoas com doenças crônicas. O uso dos óleos essenciais deve sempre ser acompanhado por um aromaterapeuta habilitado, pois, alguns óleos essenciais podem promover reações de hipersensibilidade, agravar doenças pré-existentes, interagir com medicamentos e/ou causar efeitos adversos se não utilizados adequadamente (BAUDOUX, 2018).

A via principal de utilização dos OEs é a via olfativa. O bulbo olfativo fica situado no alto das narinas e contém cerca de dez milhões de células olfativas (LAVABRE, 2018). Buck e Axel em 2004 identificaram que o ser humano possui cerca de 350 receptores diferentes e necessita de 10 receptores para discriminar uma molécula odorífera. Os impulsos nervosos captados pelos nervos olfativos são enviados para o sistema límbico (amígdala, tálamo, hipotálamo, a glândula pituitária, a pineal, e o hipocampo), onde há o processamento de emoções como prazer, dor, raiva, medo, tristeza, sentimentos sexuais e memória (LAVABRE, 2018). Quando as moléculas odoríferas são inaladas, produzem resultados antes mesmo de serem absorvidas, por meio dos neurônios olfativos que enviam sinais eletroquímicos para o sistema límbico, gerando respostas emocionais no córtex cerebral (LYRA, 2009).

Dessa forma os aromas influenciam o organismo através de duas formas: fisiológica e psicológica, por dois mecanismos, farmacológico e olfativo. O olfativo tem acesso direto ao sistema nervoso central e, portanto, ao eixo psico-neuro-endócrino-imunológico, no qual a aromaterapia atua de forma direta ou indireta nos sistemas nervoso, endócrino, imune e psicológico (LYRA, 2009). Devido ao fato da via inalatória não depender diretamente da concentração do OE, essa forma é a mais rápida, segura e eficaz de utilização. Além disso, essa via produz efeitos psicológicos, emocionais e físicos satisfatórios com menores quantidades do OE, promovendo menor risco de intoxicação se comparado com outras vias (LAVABRE, 2018).

A pele é o maior órgão do corpo humano, chegando a alcançar cerca de 16% do peso corporal total, com uma superfície média que varia entre 1,5m² e 2m² (CUNHA et al., 2004). A pele é constituída por duas camadas principais, a epiderme e a derme. A epiderme é a camada mais externa e é formada por tecido epitelial especializado. A derme é a camada mais profunda nela há um grande número de apêndices cutâneos, sendo eles: nervos especializados, receptores, glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas, folículos pilosos e vasos sanguíneos e capilares. É nessa camada onde acontece grande parte da absorção sistêmica de substâncias e fármacos (ALEXANDER, 2012). Por isso, a via dermatológica é a segunda via de utilização mais importante na aromaterapia, no entanto, os óleos essenciais precisam ser diluídos em cremes neutros, óleos vegetais ou manteigas vegetais para facilitar a absorção e proteger a pele de irritações. Os óleos vegetais são substâncias

gordurosas não voláteis obtidas pela prensagem das sementes, de nozes e amêndoas, como o óleo de gergelim, soja, amêndoas, jojoba, entre outros (HOARE, 2010).

O percentual de diluição depende de alguns fatores como: OE utilizado, idade da pessoa, parte do corpo e finalidade terapêutica. No Quadro 1, estão as recomendações de diluição dos OEs, separados por área do corpo e finalidade.

QUADRO 1 – Recomendação de diluição dos óleos essenciais separados por área do corpo e/ou finalidade

Área/Finalidade	Porcentagem de OE	Exemplo de formulação
Rosto	0,5%	Hidratante, sérum, sabonete facial
Couro cabeludo	0,5%	Xampu anticaspa, xampu para crescimento capilar
Feridas na pele	0,5%	Pomada de queimadura
Corpo	1,0%	Óleo de massagem, hidratante corporal, sabonete corporal
Dor aguda	1,5%	Óleo de massagem para distensão, óleo de massagem para artrite
Estética localizada	1,5%	Óleo de massagem para queima de gordura

Fonte: Adaptado do website Harmonie Aromaterapia LTDA (Disponível em: <https://blog.harmoniearomaterapia.com.br/diluicao-de-oleos-essenciais/>)

O uso interno dos óleos essenciais através da via oral, vaginal ou retal é indicado apenas em casos específicos e deve ser prescrito por um profissional habilitado. Se não há indicação do profissional e acompanhamento terapêutico, é preferível não efetuar o uso dessa via de utilização. Os OEs são substâncias extremamente concentradas e seu uso requer cuidados, por isso, é recomendado que se realize um acompanhamento com um aromaterapeuta qualificado (BAUDOUX, 2018).

2.1.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os OEs englobam diversas atividades biológicas, dentre elas estão: citotoxicidade, fototoxicidade, carcinogenicidade, mutagenicidade nuclear e citoplasmática e propriedades antimutagênicas (BAKKALI et al., 2008). De acordo com BURT (2004), a atividade dos OEs engloba ação fitoterápica, antiviral, antiséptica, nutricional, antifúngica, antioxidante, antitumoral, entre outras (BURT, 2004).

A atividade antimicrobiana de plantas tem sido atribuída aos terpenóides e compostos fenólicos como timol, carvacrol, carvona, mentol e muuroleno (DIDRY, 1993 e CONNER, 1993), eugenol, alicina, linalol, sabineno, mirceno e canfeno, devido às suas característica hidrofóbicas (REIS, 2020). Esses compostos podem interagir em diferentes alvos e funções das células dos MOs como por exemplo, rompendo a parede celular microbiana, inibindo a síntese de ácidos nucleicos, causando distúrbios nas propriedades da membrana citoplasmática e interferindo no metabolismo energético (BARBOSA et al., 2015).

Por serem compostos com alta lipofilicidade, os OEs têm a capacidade de atravessar a parede e a membrana celular das bactérias, promovendo o aumento da permeabilidade e o extravasamento do conteúdo intracelular (SOLÓRZANO-SANTOS, MIRANDA-NOVALES, 2012). Como consequência, as bactérias perdem íons, o que resulta numa redução do potencial da membrana, colapso da bomba de prótons e perda de trifosfato de adenosina (ATP) (RAUT, KARUPPAYIL, 2014).

Nas células eucarióticas (fungos), os compostos ativos dos OEs podem causar despolarização da membrana da mitocôndria atuando nos canais de cálcio e outros canais iônicos, o que leva a uma redução do pH (acidificação do meio). Essa acidificação causa um colapso da bomba de prótons e perda de ATP, tal como nas bactérias (RAUT, KARUPPAYIL, 2014).

Segundo Simões (2009), muitas substâncias isoladas de produtos do metabolismo secundário das plantas exercem ação antibacteriana, porém, a maioria destas moléculas apresenta atividade fraca e espectro de ação limitado quando utilizadas de maneira isolada. Portanto, os OEs podem ser utilizados de forma combinada e sinérgica aos antimicrobianos convencionais, modificando o perfil de sensibilidade e diminuindo a dose necessária para atingir a eficácia terapêutica (SIMÕES, 2009). Na combinação de OEs com um fármaco antimicrobiano sintético, a

alteração de membrana favorece a entrada do fármaco no interior da célula do MO, aumentando assim, a ação bactericida e podendo levar a morte do microrganismo (PAULA, 2010).

2.2 PROBLEMÁTICA DA RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA

Os antimicrobianos - antibióticos, antivirais, antifúngicos e antiparasitários - são medicamentos usados para prevenir e/ou tratar infecções em humanos, animais e plantas. A resistência aos antimicrobianos ocorre quando os microrganismos desenvolvem mecanismos de resistência por mutação ou aquisição de elementos genéticos e param de responder aos medicamentos, tornando as infecções mais difíceis de tratar e aumentando o risco de propagação de doenças infecciosas (OMS, 2015).

Apesar de o desenvolvimento da resistência antimicrobiana ser um processo natural dos microrganismos, esse desenvolvimento está ocorrendo de maneira rápida e ampla devido aos fatores a seguir: (i) mau uso de antimicrobianos tanto em humanos quanto na produção animal; (ii) programas inadequados ou inexistentes de prevenção e controle de infecções; (iii) antimicrobianos de má qualidade; (iv) capacidade laboratorial ineficaz; (v) vigilância e monitoramento inadequados; (vi) insuficiente regulamentação e fiscalização do uso dos medicamentos antimicrobianos (PLANO DE AÇÃO NACIONAL DE PREVENÇÃO E CONTROLE DA RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS NO ÂMBITO DA SAÚDE ÚNICA, 2019).

A OMS declarou que a resistência antimicrobiana é uma das 10 principais ameaças à saúde pública global que a humanidade enfrenta. Para lidar com esse problema a OMS, em maio de 2014, desenvolveu um plano de ação global sobre a resistência antimicrobiana para garantir, pelo maior tempo possível, a continuidade dos tratamentos bem-sucedidos e da prevenção de doenças infecciosas com medicamentos eficazes e seguros (OMS, 2020). As metas contidas no plano estão agrupadas em cinco eixos estratégicos que estão sendo buscadas desde 2015, e estarão em vigor até 2022, e estão descritas a seguir:

- Melhorar a consciência e compreensão da resistência antimicrobiana;
- Fortalecer o conhecimento por meio de vigilância e pesquisa;
- Reduzir a incidência de infecção;
- Otimizar o uso de agentes antimicrobianos;

- Desenvolver justificativas econômicas para o investimento sustentável que leve em consideração as necessidades de todos os países;
- Aumentar o investimento em novos medicamentos, ferramentas de diagnóstico, vacinas e outras intervenções.

A fim de diminuir o impacto da resistência antimicrobiana diante de fármacos sintéticos, as plantas medicinais vem ganhando cada vez mais espaço para contribuir no tratamento de tais infecções (COSTA et al., 2009).

2.3 MICRORGANISMOS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA

As infecções podem ser categorizadas em comunitárias ou hospitalares. As infecções comunitárias são aquelas determinadas nas primeiras 48 horas de internação, sem que tenha ocorrido internação anterior. Já as infecções hospitalares são determinadas em mais de 48 horas após admissão ou alta do paciente (HENDERSON et al., 2013).

O grupo de patógenos mais presente nas infecções são as bactérias que constituem a microbiota humana, e que normalmente não trazem risco a indivíduos saudáveis devido a sua baixa virulência, mas podem vir a causar infecção em indivíduos com estado clínico comprometido, sendo assim, chamadas de bactérias oportunistas (MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO EM SERVIÇOS DE SAÚDE, 2004).

Geralmente os sítios de infecção mais frequentemente atingidos são o trato urinário, feridas cirúrgicas e trato respiratório. Os principais motivos que influenciam na aquisição de uma infecção são: imunossupressão, uso prolongado de antibióticos, idade (recém-nascidos e idosos são mais vulneráveis), procedimentos médicos (invasivos), falhas nos procedimentos de controle de infecção (MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLÍNICA PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO EM SERVIÇOS DE SAÚDE, 2004).

Os patógenos mais comuns causadores de diversas infecções estão citados no Quadro 2:

QUADRO 2 – Patógenos mais comuns em infecções comunitárias e hospitalares

Patógeno	Sítios comuns de isolamento
Bactérias Gram negativas	
<i>Escherichia coli</i>	Trato urinário, feridas cirúrgicas, sangue
<i>Pseudomonas spp</i>	Trato urinário, trato respiratório, queimaduras
<i>Klebsiella spp</i>	Trato urinário, trato respiratório, feridas cirúrgicas
<i>Proteus spp</i>	Trato urinário, feridas cirúrgicas
<i>Enterobacter spp</i>	Trato urinário, trato respiratório, feridas cirúrgicas
<i>Serratia spp</i>	Trato urinário, trato respiratório, feridas cirúrgicas
Bactérias Gram positivas	
<i>Streptococcus spp</i>	Trato urinário, trato respiratório, feridas cirúrgicas
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pele, feridas cirúrgicas, sangue
<i>Staphylococcus epidermitis</i>	Pele, feridas cirúrgicas, sangue
Fungos	
<i>Candida albicans</i>	Trato urinário, sangue

Fonte: Adaptado do Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde, 2004.

Staphylococcus aureus, uma bactéria gram positiva, além de ser responsável pela maioria das infecções de pele, pode também causar pneumonia. A infecção cutânea possui uma prevalência de 40% nas infecções comunitárias e a resistência dos agentes infecciosos está relacionada ao uso indiscriminado de antimicrobianos e à profilaxia prolongada (ANVISA, 2008).

De acordo com Pereira da Cruz (2015) as infecções do trato urinário (ITUs) são uma das infecções adquiridas na comunidade que mais levam ao consultório médico. *Escherichia coli* é um dos principais uropatógenos, sendo responsável por até 90% das infecções agudas (BILLIPS et al., 2009).

É sabido que tais doenças causadas por esses microrganismos são um problema de saúde pública, portanto, o trabalho buscará avaliar as potencialidades

dos OEs como agentes antimicrobianos ou como precursores de novos fármacos antimicrobianos.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a espécies de bactérias e levedura de importância clínica em humanos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Pesquisar e investigar as indicações terapêuticas associadas às propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais disponibilizados pela empresa Harmonie Aromaterapia LTDA por revisão de literatura.
- b) Analisar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais selecionados frente às cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 e ATCC 35218, *S. aureus* resistente à meticilina, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 e a cepa de levedura *Candida albicans* ATCC 14053 pelo método de disco-difusão.
- c) Avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) dos óleos essenciais com melhor atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição em caldo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo experimental exploratório quantitativo.

4.1 REVISÃO DA LITERATURA PARA SELEÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

A revisão da literatura foi realizada com o intuito de selecionar os OEs que apresentassem indicações relacionadas à atividade antimicrobiana. Inicialmente, foi realizada uma busca no website da empresa Harmonie Aromaterapia LTDA (<https://harmoniearomaterapia.com.br/>) localizada em Florianópolis, Santa Catarina, pesquisando as indicações de todo o portfólio de OEs disponíveis. Além dessa pesquisa preliminar, foi realizada uma busca dos artigos originais publicados entre 2000 a 2021 em Inglês e Português recuperados a partir de quatro bases de dados:

PubMed, Scielo, ScienceDirect e Google Scholar. A estratégia de busca incluiu as seguintes palavras chaves ou descritores: “Essential Oil”, “Antimicrobial”, “Antimicrobial Activity”, “Atividade antimicrobiana” e “Óleos essenciais”.

4.2 SELEÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os OEs foram selecionados do portfólio da empresa Harmonie Aromaterapia LTDA. Todos os OEs comercializados por essa empresa são 100% puros e naturais, e possuem laudo cromatográfico disponível para download na loja virtual (<https://harmoniearomaterapia.com.br/>).

Os seguintes critérios foram utilizados na seleção dos OEs: (i) preço menor que 70 reais; (ii) ser indicado para lesões de pele como acne, dermatites, ou outras infecções bacterianas, como bronquite, pneumonia e cistite; (iii) ser indicado para infecções fúngicas, como pé de atleta e candidíase.

Dos 68 OEs disponíveis no portfólio, 35 são indicados como tratamento para infecções bacterianas, fúngicas ou virais. Dentre esses 35 OEs, 10 foram selecionados, sendo eles: *Cymbopogon flexuosus* (Capim-limão), *Copaífera officinalis* (copaíba), *Ocimum basilicum* (Manjeriço), *Origanum majorana* (Manjerona), *Origanum vulgare* (Orégano), *Schinus terebinthifolius* (pimenta rosa), *Cyperus articulatus* (priprioca), *Salvia sclarea* (sálvia esclaréia), *Amyris balsamifera* (sândalo amyris) e *Thymus vulgaris* (Tomilho).

No Quadro 3 foram listados os OEs selecionados em ordem alfabética, seus respectivos nomes científicos, indicação baseado na prática clínica, país de origem da planta, preço em reais, e contra-indicações.

QUADRO 3 – Óleos essenciais selecionados e suas características

Óleo essencial	Nome científico	Indicação baseado na prática clínica	País de origem	Preço (R\$)	Contraindicações
Capim-limão	<i>Cymbopogon flexuosus</i>	Combate pé de atleta e acne, usado como desodorante	Índia	R\$ 29,00	Interage com medicamentos. Irritante para pele e mucosas se utilizado em concentração superior a 0,7% em formulações tópicas.
Copaíba resina	<i>Copaifera officinalis</i>	Acne, eczema, bronquite, fungicida, trata herpes, furúnculos e fungos na pele e unha	Brasil	R\$ 16,50	Considerado seguro.
Manjeriço	<i>Ocimum basilicum</i>	Tosse, bronquite, sinusite	Vietnã	R\$ 29,00	Irritante para pele e mucosas se utilizado mais que 3% em formulações tópicas.
Manjerona	<i>Origanum majorana</i>	Antifúngico e bactericida de amplo espectro	Egito	R\$ 44,00	Contraindicado para gestantes.
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	Atua contra <i>Candida albicans</i> . Gripes, resfriados e tosse	Espanha	R\$ 66,00	Contraindicado para gestantes e crianças abaixo de 2 anos.
Pimenta rosa	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Espinhas, acne, cistite e candidíase	Brasil	R\$ 44,00	Considerado seguro.
Priprioca	<i>Cyperus articulatus</i>	Antisséptico em feridas e infecções	Brasil	R\$ 67,00	Contraindicado para gestantes.

Óleo essencial	Nome científico	Indicação baseado na prática clínica	País de origem	Preço (R\$)	Contraindicações
Salvia esclareia	<i>Sálvia sclarea</i>	Acne, furúnculo, dermatites	Rússia	R\$ 43,00	Contraindicado para gestantes.
Sândalo amyris	<i>Amyris balsamifera</i>	Acne, candidíase, cistite, feridas de pele	Haiti	R\$ 48,00	Considerado seguro
Tomilho	<i>Thymus vulgaris</i>	Micoses, candidíase, tosse	Espanha	R\$ 34,00	Contraindicado para gestantes e crianças até 2 anos.

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

4.3 SELEÇÃO DAS CEPAS DOS MICRORGANISMOS

As cepas bacterianas e fúngica selecionadas representam os agentes etiológicos frequentes das infecções relacionadas às indicações baseadas na prática clínica dos OEs.

As cepas foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Microbiologia da Unidade do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU/UFSC/EBSERH) e pelo Prof. Dr. Sérgio Eduardo Longo Fracalanza, do Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes, da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Foram utilizadas cinco cepas de bactérias, sendo elas: *S. aureus* produtor de β -lactamase de espectro estreito ATCC 29213, isolado clínico de *S. aureus* resistente à meticilina clone epidêmico USA 400, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* produtor de β -lactamase do tipo TEM-1 ATCC 35218 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 produtor de β -lactamase do tipo SHV-2. Além de uma levedura *Candida albicans* ATCC 14053.

4.4 MÉTODO DE DISCO-DIFUSÃO

A triagem da atividade antimicrobiana dos OEs frente aos microrganismos foi realizada por meio do método de disco-difusão.

O método de disco-difusão é considerado satisfatório para determinar a sensibilidade de vários microrganismos a diferentes produtos farmacêuticos e fornece evidência de mecanismos de resistência devido à degradação do agente antimicrobiano pelo microrganismo (KATZUNG, 2003).

4.4.1 PREPARO DO INÓCULO BACTERIANO

Para a preparação do inóculo, foram transferidas 3 a 4 colônias do respectivo microrganismo em um tubo contendo 3 mL de solução salina 0.9%, até atingir a turbidez compatível com a escala 0.5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) para as bactérias e escala 1.0 de McFarland ($3,0 \times 10^8$ UFC/mL) para a levedura (RABINOVITCH et al., 2015). Em seguida, essa suspensão foi semeada em placas de petri contendo Müller-Hinton Ágar (MHA), utilizando swab de algodão alginatado (SILVEIRA 2012).

Discos de papel estéreis (6 mm de diâmetro) foram impregnados com 15 µL de cada óleo essencial puro, secos a temperatura ambiente e depositados sobre a superfície do MHA inoculado. As placas foram incubadas a 35°C por 18 horas (SILVEIRA, 2012).

Para o controle de qualidade do método, os seguintes discos de antimicrobianos foram utilizados para as cepas bacterianas a seguir:

Escherichia coli ATCC 25922: Amicacina (AMI 30 µg), Cefazolina (CFZ 30 µg), Ceftriaxona (CRO 30 µg), Cefepime (CPM 30 µg), Ciprofloxacino (CIP 5 µg), Gentamicina (GEN 10 µg), Meropenem (MER 10 µg), Sulfametoxazol + trimetropim (SUT 1.25/ 23.75 µg).

Escherichia coli ATCC 35218: Amoxicilina/clavulanato (AMC 20/10 µg), Ampicilina (AMP10 µg), Piperacilina/Tazobactam (PTZ 100/10 µg).

Staphylococcus aureus ATCC 29213 e *Staphylococcus aureus* MRSA USA 400: Cefoxitina (CFO 30 ug), Eritromicina (ERI 15 ug), Clindamicina (CLI 2 ug), Oxacilina (OXA 1 ug), Rifampicina (RIF 5 ug), Penicilina (PEN).

Klebsiella pneumoniae ATCC 700603: Amoxicilina/clavulanato (AMC 20/10 µg), Ceftazidima (CZD), Ceftriaxona (CRO 30 µg), Cefepime (CPM 30 µg).

4.4.2 LEITURA DOS HALOS DE INIBIÇÃO

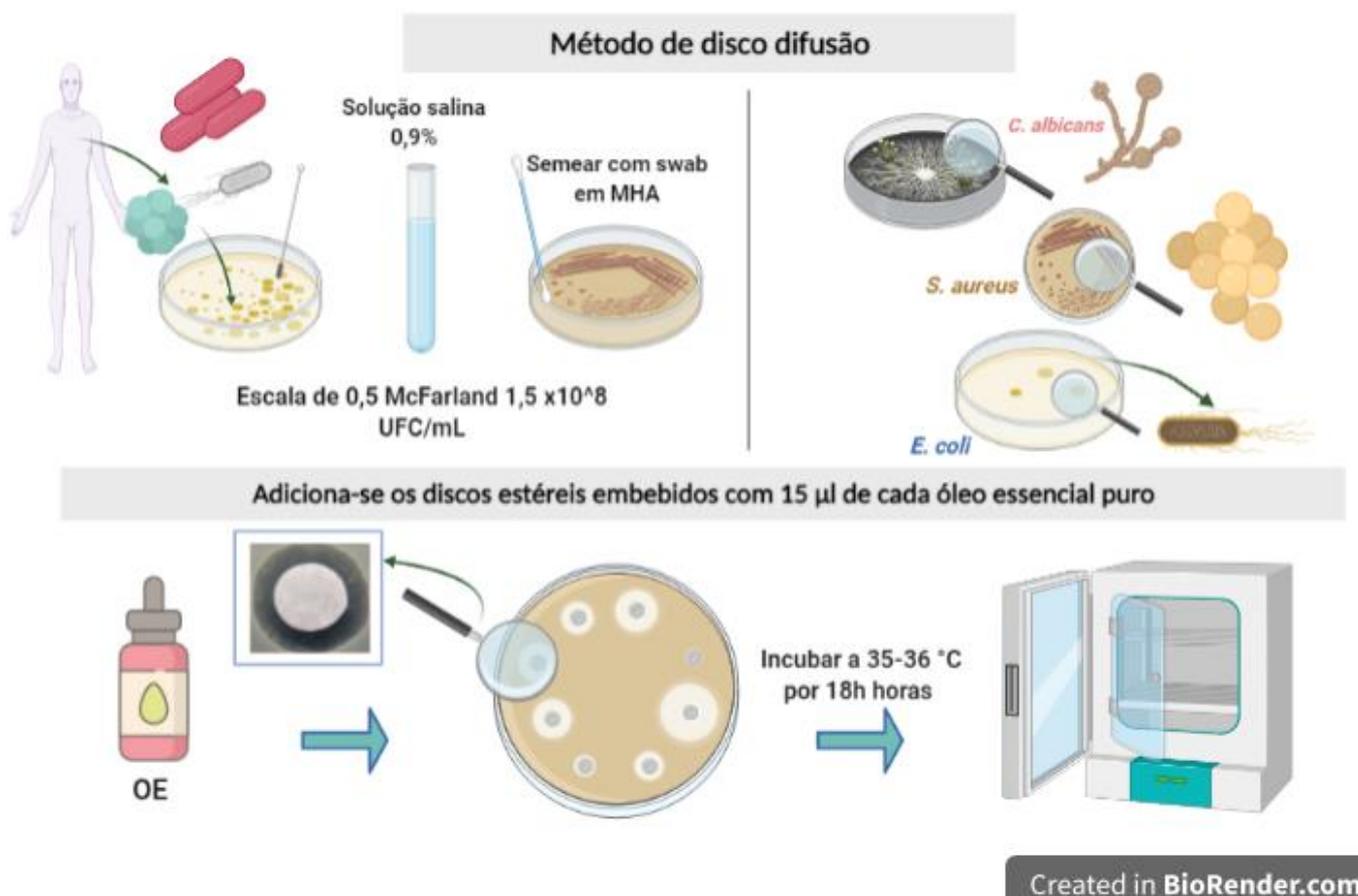
A leitura das bordas dos halos de inibição para os discos contendo OEs e antimicrobianos do controle de qualidade foi lida no ponto de completa inibição do crescimento, visto a olho nu, com a placa posicionada a cerca de 30 cm dos olhos. Os diâmetros dos halos de inibição foram medidos em milímetros com uma régua (BRCAST, 2018).

A interpretação do halos de inibição do controle de qualidade foi realizada conforme intervalos recomendados pela [versão brasileira do *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing \(EUCAST/versão BrCAST\)*](#) (BRCAST, 2020).

Como parâmetro de interpretação da atividade antimicrobiana dos OEs, foram empregados os padrões de sensibilidade utilizados por MOREIRA et al. (2005), diâmetro do halo de inibição: não sensível: ≤ 8 mm; sensível: de 9-14 mm; muito sensível: 15-19 mm; extremamente sensível: ≥ 20 mm (MOREIRA, 2005).

A Figura 1 ilustra o procedimento do método de disco-difusão.

FIGURA 1 – Ilustração esquemática do procedimento do método de disco-difusão



Fonte: Elaborado pela autora utilizando a plataforma BioRender, 2021.

4.5 MÉTODO DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO

Os OEs que apresentaram tamanho de halo de inibição a partir de 9 mm no método de disco-difusão, foram testados para determinação da concentração inibitória mínima através do método da microdiluição em caldo. A concentração inibitória mínima (CIM) é a menor concentração do agente antimicrobiano capaz de inibir o crescimento do microrganismo (SANTURIO et al., 2011).

Primeiramente, foram preparadas as soluções-estoque para o controle de qualidade utilizando ceftriaxona e para os óleos essenciais

4.5.1 PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE DE CEFTRIAXONA

Para estabelecer a concentração da solução-estoque foi considerado o intervalo padronizado pelo BRCAS (2021) para a CIM de *Escherichia coli* ATCC

25922 para ceftriaxona, sendo 0,03 – 0,125 µg/mL. O cálculo a seguir foi utilizado para encontrar o valor da concentração da solução-estoque:

$$C (\mu\text{g/mL}) = C1 (\mu\text{g/mL}) \times \text{FC1} \times \text{FC2}$$

$$C = 0,5 \mu\text{g/mL} \times 2 \times 100 = 100 \mu\text{g/mL}$$

$$\mathbf{C = 100 \mu\text{g/mL}}$$

C1 = 0,5 µg/mL; é o valor de duas concentrações acima de 0,125 µg/mL que representa o limite superior da CIM de ceftriaxona para *Escherichia coli* ATCC 25922 no teste do controle de qualidade (BRCast, 2021)

FC1 = 2 = fator de correção de diluição (1:2) ao adicionar o inóculo bacteriano

FC2 = 100 = fator de correção da diluição 1:100 para garantir precisão na pesagem

C = 100 µg/mL; é a concentração da solução estoque de ceftriaxona

Para definir a quantidade de sal de ceftriaxona a ser pesado para fazer a solução estoque, foi feito o seguinte cálculo:

$$P (\text{mg}) = \frac{\text{Concentração da solução estoque } (\mu\text{g/mL}) \times \text{volume da solução (mL)}}{\text{Potência do sal } (\mu\text{g/mg})}$$

$$P = \frac{100 (\mu\text{g/mL}) \times 10 (\text{mL})}{1000 (\mu\text{g/mg})}$$

Peso (mg) = 1 mg ou 0,0010 g de sal de ceftriaxona

P (mg) = é o valor a ser pesado do sal de ceftriaxona

10 mL = volume de água destilada estéril para preparo da solução estoque

Potência = 1000 µg/mg = potência do sal de ceftriaxona

Para o preparo da maior concentração de ceftriaxona a ser adicionada na placa, a solução estoque de ceftriaxona (100 µg/mL) deverá ser diluída 1:100 em MHB. O cálculo foi feito a partir da fórmula:

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

$$100 \mu\text{g/mL} \times V1 = 1 \mu\text{g/mL} \times 2 \text{ mL}$$

$$\frac{2\mu\text{g}}{100 \mu\text{g/mL}}$$

0,02 mL ou 20 μL diluído em 1,98 mL de MHB

A partir da concentração de 1 $\mu\text{g/mL}$ foram realizadas diluições seriadas 1:2 até atingir a concentração mais baixa (0,015 $\mu\text{g/mL}$) a ser adicionada na placa. Ao finalizar as diluições, foram obtidas as concentrações finais de 1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,06; 0,03 e 0,015 $\mu\text{g/mL}$.

4.5.2 PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE DE OE

De acordo com o estudo de Santurio et al., (2011), foi estabelecido a concentração máxima de 16 $\mu\text{L/mL}$.

$$C (\mu\text{L/mL}) = C1 (\mu\text{L/mL}) \times FC1$$

$$C = 16 \mu\text{L/mL} \times 2 = 32 \mu\text{L/mL}$$

Para o preparo da maior concentração do OE a ser adicionada na placa, a solução estoque de 32 $\mu\text{L/mL}$ deverá ser preparada em MHB com 3% de DMSO.

Preparo de MHB com 3% de DMSO: 240 μL de DMSO + 7.760 μL de MHB

64 μL de OE + 1.936 μL de MHB com 3% de DMSO

A partir da concentração de 32 $\mu\text{L/mL}$ foi realizado diluições seriadas até atingir a concentração mais baixa (0,06 $\mu\text{L/mL}$) a ser adicionada na placa.

Ao finalizar as diluições, serão obtidas as concentrações finais de 32; 16; 8; 4; 2; 1, 0,5, 0,25, 0,125, e 0,06 $\mu\text{L/mL}$.

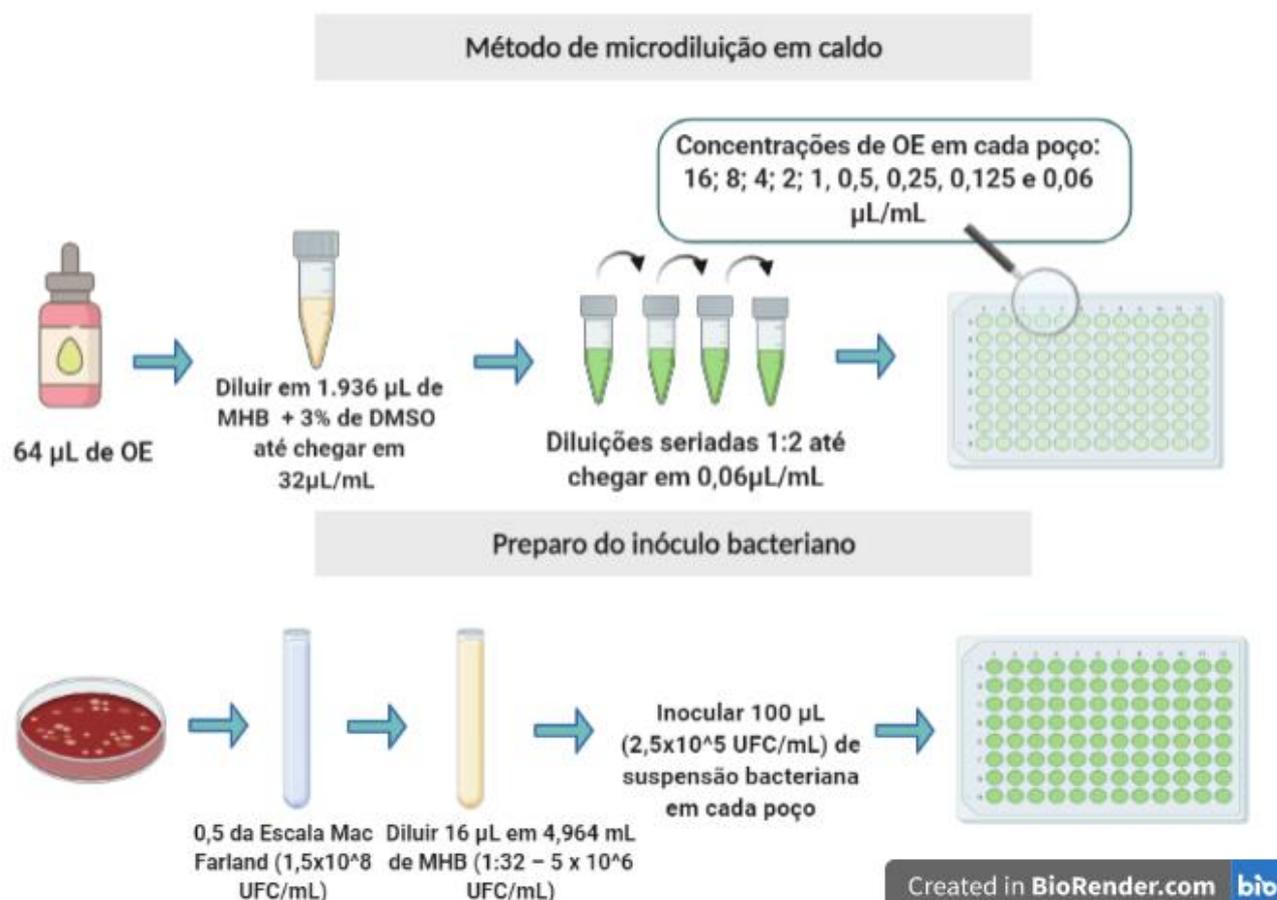
4.5.3 PREPARO DO INÓCULO

As colônias que cresceram em ágar sangue, foram suspensas em solução salina 0,9% para obter-se uma turvação equivalente ao tubo 0,5 da Escala Mac Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Para a preparação do inóculo, diluiu-se 16 μ L dessa solução em 4,964 mL de MHB ($1:32 - 5 \times 10^6$) e após isso transferiu-se 100 μ L dessa nova solução bacteriana para a placa de microdiluição contendo 100 μ L da solução de OE ou ceftriaxona (diluição 1:2).

A concentração final do inóculo na placa foi de aproximadamente $2,5 \times 10^5$ e as concentrações do antimicrobiano diluídas pela metade.

A Figura 2 ilustra o procedimento das diluições e do preparo do inóculo bacteriano.

FIGURA 2 – Ilustração esquemática do procedimento do método de microdiluição em caldo e preparo do inóculo bacteriano



Fonte: Elaborado pela autora utilizando a plataforma BioRender, 2021.

4.5.4 PREPARO DAS PLACAS DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO

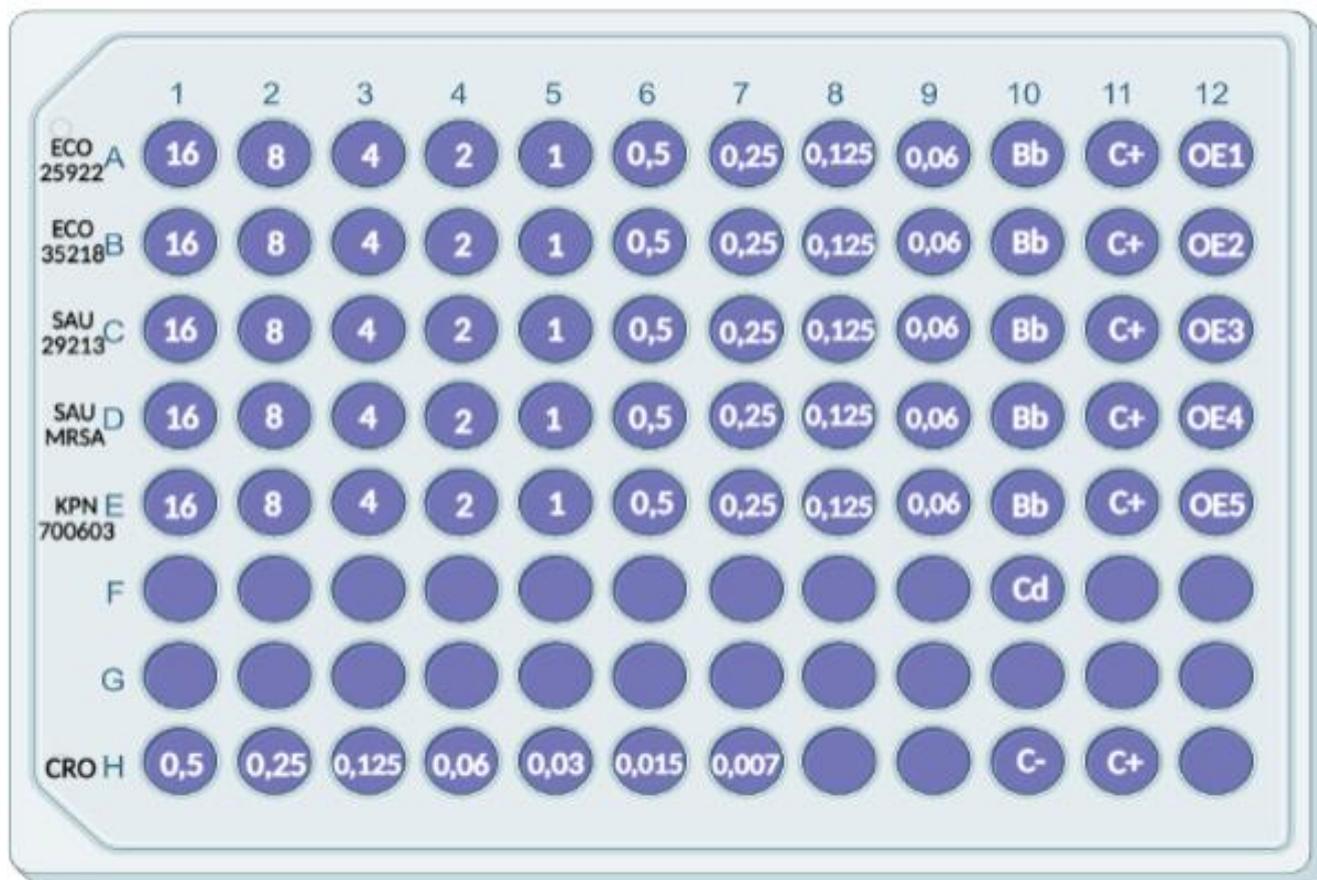
A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada em placas de 96 poços com fundo em U dispostos em 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H).

Após feitas as diluições seriadas tanto do controle do método, quanto dos óleos essenciais, adicionou-se com uma micropipeta monocalal 100 µL de cada diluição seriadas em cada poço da placa. A linha A corresponde a cepa *Escherichia coli* ATCC 25922, a linha B corresponde a cepa *Escherichia coli* ATCC 35218, a linha C corresponde a cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, a linha D corresponde a cepa *Staphylococcus aureus* MRSA USA 400 e a linha E corresponde a cepa *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 e a linha H corresponde ao controle do método, diferentes concentrações de ceftriaxona frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

A coluna 10 até a linha E possui o poço do branco bacteriano, que contém 100 µL MHB já diluído em 3% de DMSO, acrescido de 100 µL de inóculo. Este controle serve para verificar a viabilidade do DMSO frente às bactérias. A coluna 10, linha H possui o controle negativo, que inclui apenas 200,0 µL de MHB. A coluna 10, linha F possui o Cd, que é o controle do diluente (DMSO), incluindo apenas 200 µL de MHB diluído em 3% de DMSO. A função desse controle é verificar a esterilidade do DMSO. A coluna 11 possui o controle positivo para cada bactéria, e inclui 100 µL de MHB acrescido de 100 µL de inóculo bacteriano. Na coluna 12, adicionou-se cada OE acrescido em MHB (95 µL de MHB + 5 µL de OE) para verificar se os OEs estavam previamente contaminados.

Dessa forma, a disposição final da placa foi a seguinte, como disposto na Figura 3.

FIGURA 3 – Ilustração esquemática do mapa da placa de 96 poços na sua disposição final



Created in BioRender.com

Legenda: Mapa da placa de microdiluição na sua disposição final. Coluna 10 até a linha E: Bb (branco bacteriano) que contém 100 µL MHB diluído em 3% de DMSO, acrescido de 100 µL de inóculo; Coluna 10, linha H: C- (controle negativo) que inclui apenas 200,0 µL de MHB; Coluna 10, linha F: Cd, (controle do diluente DMSO) que possui 200 µL de MHB diluído em 3% de DMSO; Coluna 11: C+ (controle positivo para cada bactéria) que inclui 100 µL de MHB acrescido de 100 µL de inóculo bacteriano; Coluna 12: OE, possui cada OE acrescido em MHB (95 µL de MHB + 5 µL de OE); Coluna H contém o controle de ceftriaxona para a cepa bacteriana *E.coli* ATCC 25922, contendo sete concentrações do antimicrobiano e seu respectivo controle positivo.

Fonte: Elaborado pela autora utilizando a plataforma BioRender, 2021.

As microplacas foram incubadas protegidas no plástico da própria embalagem, durante 24h a 35°C, em condições de aerobiose (SANTURIO et al., 2011).

Em uma fileira de uma placa, foi testado o controle para validar o método. O controle utilizado foi o sal de ceftriaxona heptahidratado Sigma-Aldrich (Merck), o antimicrobiano padronizado para *Escherichia coli* ATCC 25922.

4.5.5 LEITURA DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA

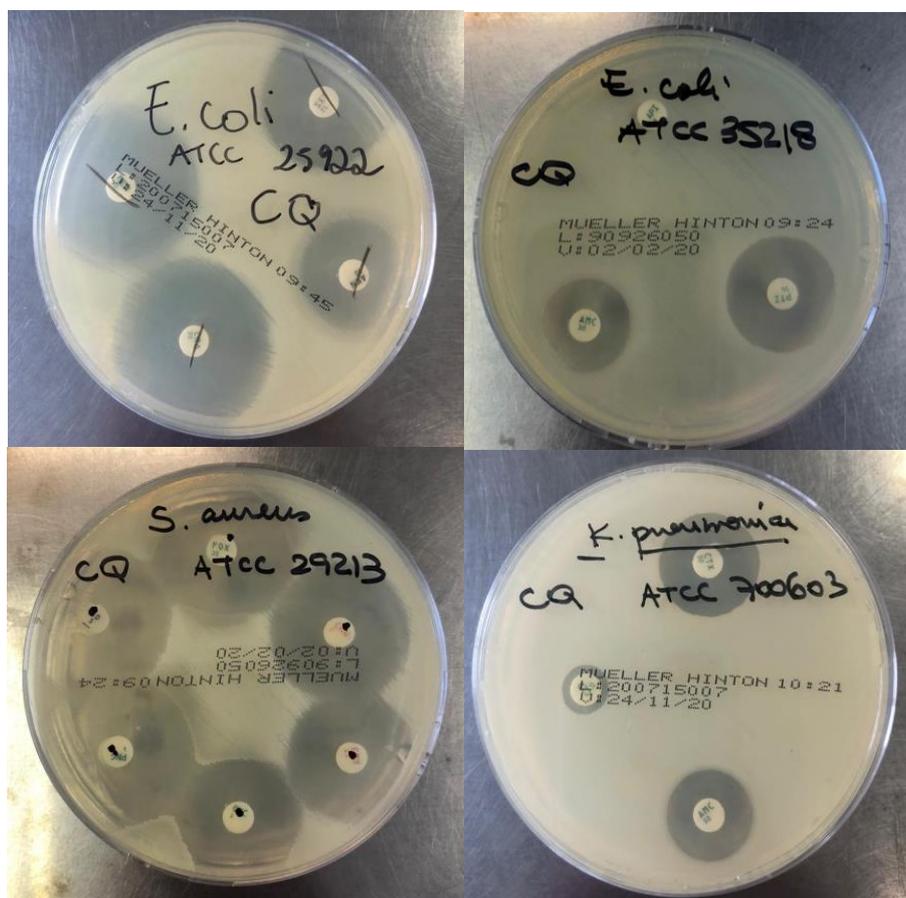
A CIM correspondeu à última diluição dos óleos essenciais na qual não foi verificada a presença de turvação no meio e precipitado bacteriano no fundo do poço (botão) após o período de incubação (FREIRE, 2014). A leitura foi feita a olho nu, considerando a turvação e a presença de precipitado característicos de crescimento bacteriano como observado nos controles positivos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 TRIAGEM DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA PELO MÉTODO DE DISCO-DIFUSÃO

Cada OE foi testado uma vez para cada microrganismo selecionado. Foi utilizada inicialmente, quantidades de 10, 15, 20, 25, e 30 µL de óleo essencial puro em cada disco estéril. Foi percebido que não houve diferenças significativas de tamanho de halo de inibição com diferentes volumes, portanto, padronizou-se os volumes utilizados em 15 µL. Todos os microrganismos utilizados nessa etapa demonstraram-se sensíveis aos antimicrobianos de referência utilizados, no teste de controle de qualidade, possuindo halos de inibição superiores ao mínimo indicado para sensibilidade ao composto, como visto na Figura 4. Com isso, tanto as cepas dos MOs quanto o método utilizados se evidenciaram adequados para utilização nos testes realizados.

FIGURA 4 – Imagens das placas com discos de antibióticos para controle de qualidade do método de disco-difusão



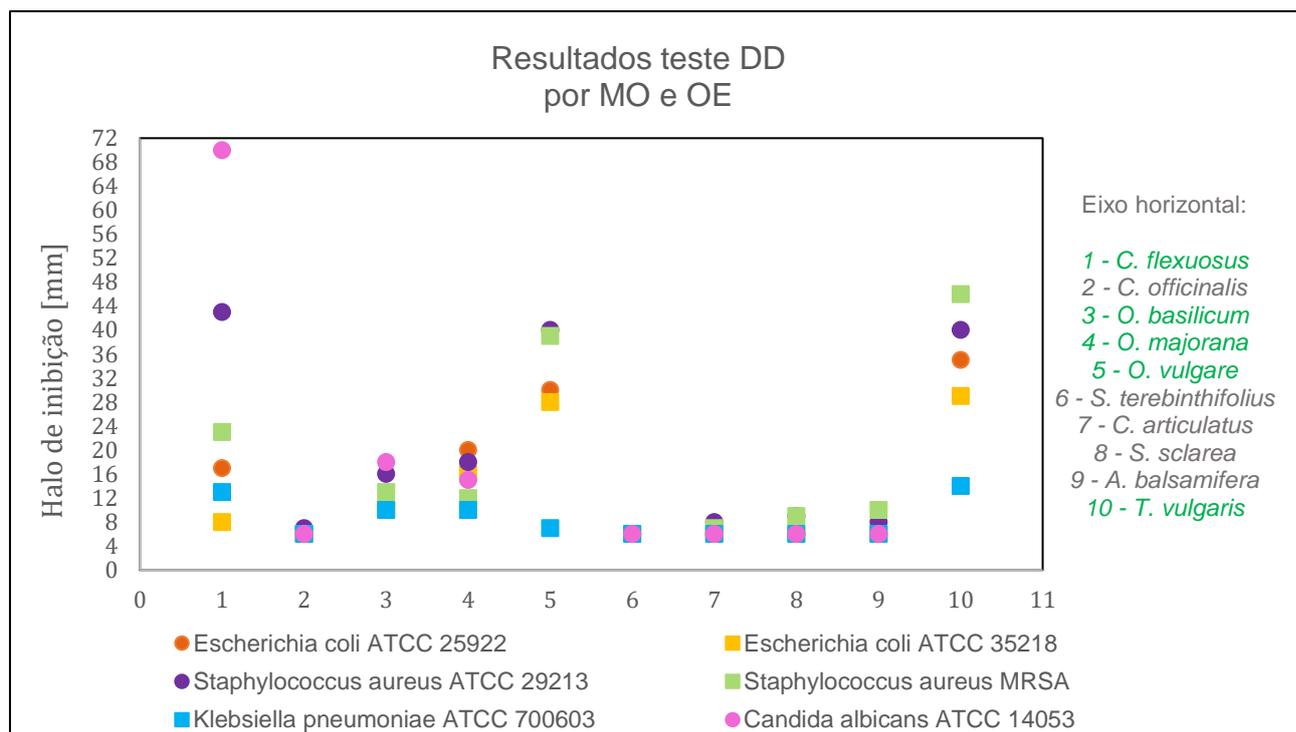
Legenda: *E. coli* ATCC 25922 com discos controles de Amicacina (AMI), Ceftriaxona (CRO), Meropenem (MPM), Sulfametoxazol/Trimetoprim (SUT); *E. coli* ATCC 35218 com discos controles de Amoxicilina-ácido clavulânico (AMC 30), Ampicilina-sulbactam (APS 20), Piperacilina-tazobactam (PIT); *S. aureus* ATCC 29213 com discos controles de Cefoxitina (CFO 30), Clindamicina (CLI), Eritromicina (ERI), Oxacilina (OXA), Penicilina (PEN), Rifampicina (RIF); *K. pneumoniae* ATCC 700603 com discos controles de Amoxicilina/Ácido Clavulânico (AMC), Cefepime (FEP), Ceftadizima (CZD), Ceftriaxona (CRO).

Fonte: Acervo pessoal da autora, 2021.

5.1.2 PERFIS DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA AOS ÓLEOS ESSENCIAIS NO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO

Dos dez óleos essenciais que foram testados, cinco obtiveram resultados com destaque. Sendo eles, *Cymbopogon flexuosus* (Capim-limão), *Ocimum basilicum* (Manjericão), *Origanum majorana* (Manjerona), *Origanum vulgare* (Orégano) e *Thymus vulgaris* (Tomilho), como visto na Figura 5.

FIGURA 5 – Gráfico de resultados do teste de disco-difusão



Legenda: Os marcadores quadrados representam as cepas bacterianas resistentes e os marcadores redondos representam as cepas bacterianas não resistentes. Os OEs marcados de verde são os selecionados para serem testados no teste de microdiluição em caldo.

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

A partir do gráfico da Figura 5, pode-se observar que o OE de *Cymbopogon flexuosus* (Capim-limão) apresentou atividade classificada como extremamente sensível (tamanho de halo ≥ 20 mm) frente a dois MOs não resistentes (*S. aureus* ATCC 29213 e *C. albicans* ATCC 14053) e um resistente (*S. aureus* MRSA). O OE de *Ocimum basilicum* (Manjericão) apresentou atividade classificada como muito sensível (tamanho de halo entre 15 e 19 mm) para dois MOs não resistentes, *S. aureus* ATCC 29213 e *C. albicans* ATCC 14053, apresentando atividade classificada como sensível (tamanho de halo entre 9-14 mm) pros demais MOs. O OE de *Origanum majorana* (Manjerona) apresentou atividade classificada como extremamente sensível frente a cepa não resistente *E. coli* ATCC 25922, e atividade classificada como muito sensível para a cepa resistente *E. coli* ATCC 35218 e os dois MOs não resistentes (*S. aureus* ATCC 29213 e *C. albicans* ATCC 14053). O OE de *Origanum vulgare* (Orégano) apresentou atividade classificada como extremamente sensível: frente a duas cepas resistentes (*E. coli* ATCC 35218 e *S. aureus* MRSA) e a

duas cepas não resistentes (*E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 29213). O OE de *Thymus vulgaris* (Tomilho) apresentou atividade classificada como extremamente sensível para todos os MOs (dois resistentes e dois não resistentes) exceto *K. pneumoniae*, que apresentou atividade classificada como sensível. Em suma, considerando a classificação de sensibilidade, os OEs que apresentaram maior atividade frente aos MOs resistentes foram em ordem crescente: *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *Origanum majorana*, *Ocimum basilicum* e por último, *Cymbopogon flexuosus*.

Tal atividade está provavelmente relacionada à composição destes OEs, visto que, os OEs de *Origanum vulgare* (Orégano) e *Thymus vulgaris* (Tomilho) e possuem grande teor de timol e carvacrol, compostos frequentemente estudados por suas propriedades antibacterianas e antifúngicas (ALEXOPOULOS, 2011).

Os dados dos resultados do teste de disco-difusão classificados pela sensibilidade podem ser encontrados a seguir na Tabela 1.

Destaca-se que 50% dos resultados foram na região considerada não sensível (<8 mm), correspondentes aos cinco OEs que não seguiram para a etapa do teste de microdiluição em caldo.

TABELA 1 - Resultados do teste de disco-difusão classificados pela sensibilidade

Classificação	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. coli</i> ATCC 35218	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>S. aureus</i> MRSA	<i>K.</i> <i>pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>C.</i> <i>albicans</i> ATCC 14053	Total
Não sensível	5	6	4	3	6	5	29
Sensível	1	1	1	4	4	0	11
Muito Sensível	1	1	2	0	0	2	6
Ext. Sensível	3	2	3	3	0	1	12
% Não Sensível	8,6%	10,3%	6,9%	5,2%	10,3%	8,6%	50%
% Sensível	1,7%	1,7%	1,7%	6,9%	6,9%	0,0%	19%
% Muito Sensível	1,7%	1,7%	3,4%	0,0%	0,0%	3,4%	10%
% Ext. Sensível	5,2%	3,4%	5,2%	5,2%	0,0%	1,7%	21%

Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

5.1.2.1 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE *Cymbopogon flexuosus*

Pode-se observar que o OE de Capim-limão teve um bom resultado, para as bactérias *S. aureus* ATCC 29213 e MRSA se mostrando extremamente sensível para tal. Assim como pra *C. albicans* ATCC 14053, alcançando um halo de inibição de 70 mm. O OE mostrou-se não sensível apenas para *E. coli* ATCC 35922. As fotos das placas estão dispostas no Apêndice B.

5.1.2.2 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE *Ocimum basilicum*

Observou-se que o OE de Manjeriço teve um bom resultado, possuindo atividade antimicrobiana para todos os microrganismos, principalmente para *C. albicans* ATCC 14053, que alcançou um halo de inibição de 18 mm. As fotos das placas estão dispostas no Apêndice C.

5.1.2.3 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE *Origanum majorana*

Foi visto que o OE de Manjerona teve um dos melhores resultados nesse teste. Para *E. coli* ATCC 35218 obteve tamanho de halo de inibição 20 mm, sendo para tal, extremamente sensível. Para *S. aureus* ATCC 29213 obteve tamanho de halo de inibição 18 mm, para MRSA obteve tamanho de halo de inibição de 12 mm. As fotos das placas estão dispostas no Apêndice D.

5.1.2.4 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE *Origanum vulgare*

Constatou-se que o OE de Orégano teve também, um dos melhores resultados nesse teste. Tendo destaque para *S. aureus* ATCC 29213 e *S. aureus* MRSA, alcançando tamanhos de halo de inibição de 40 mm e 38 mm, respectivamente. O OE de Orégano obteve resultado classificado como não sensível apenas para a bactéria *K. pneumoniae* ATCC 700603. Para *C. albicans* ATCC 14053 não foi possível delimitar a inibição quantitativamente pois não teve tamanho de halo mensurável. As fotos das placas estão dispostas no Apêndice E.

5.1.2.5 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE *Thymus vulgaris*

Notou-se que o OE de Tomilho obteve também, um dos resultados mais satisfatórios nesse teste. Tendo destaque para *S. aureus* ATCC 29213 e *S. aureus* MRSA, alcançando tamanhos de halo de inibição de 40 mm e 46 mm, respectivamente. Para *C. albicans* ATCC 14053 não foi possível delimitar a inibição quantitativamente pois não teve tamanho de halo mensurável. As fotos das placas estão dispostas no Apêndice F.

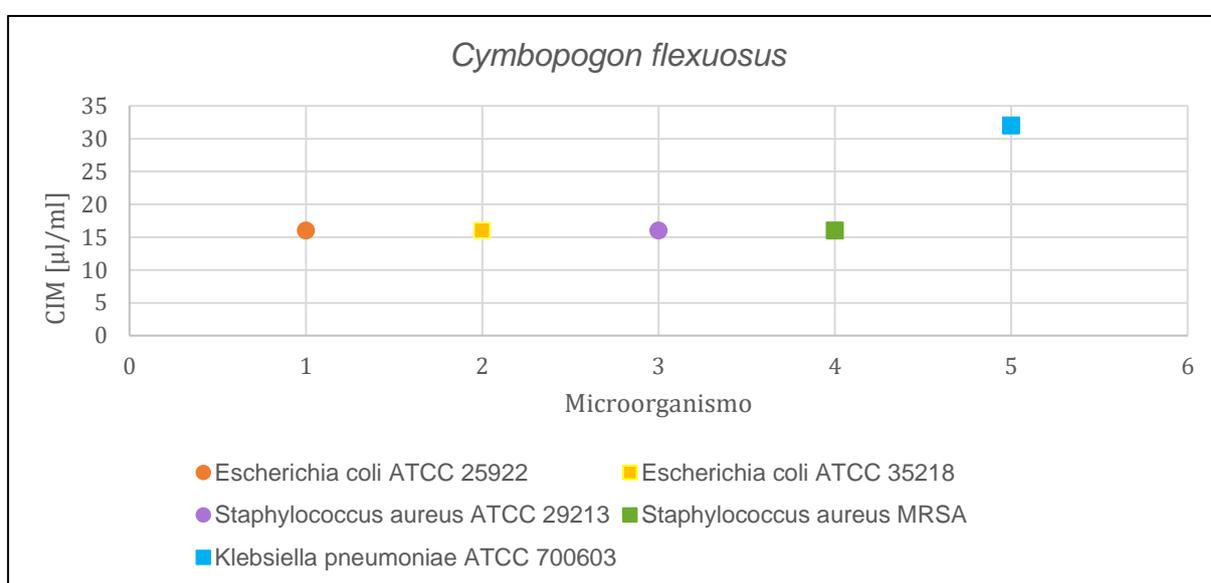
5.2 PERFIS DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA AOS ÓLEOS ESSENCIAIS NO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO

Os valores de concentração inibitória mínima (CIM) para as cepas bacterianas estão apresentados nos gráficos contidos nas Figuras 6, 7, 8, 9, 10. Verificou-se que os OEs obtiveram resultados de CIM próximos entre si. Nos gráficos estão contidos os resultados para cada OE, e também uma comparação entre os resultados dos dois testes realizados (DD e CIM). Neste teste, optou-se por não estudar a cepa fúngica *Candida albicans*, devido ao fato do resultado do teste de disco-difusão ter sido inconclusivo para dois OEs, *Origanum vulgare* (Orégano) e *Thymus vulgaris* (Tomilho).

5.2.1 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE *Cymbopogon flexuosus*

Observou-se o OE de Capim-limão obteve valores de CIM de 16 $\mu\text{L/mL}$ para todas as cepas bacterianas exceto *K. pneumoniae* ATCC 700603, que obteve um valor maior que a diluição mais concentrada da placa ($>16 \mu\text{L/mL}$). O gráfico ilustrando o perfil de atividade antimicrobiana está localizado na Figura 6.

FIGURA 6 – Gráfico do resultado de concentração inibitória mínima do OE de *Cymbopogon flexuosus* (Capim-limão)



Legenda: Os marcadores quadrados representam as cepas bacterianas resistentes e os marcadores redondos representam as cepas bacterianas não resistentes.

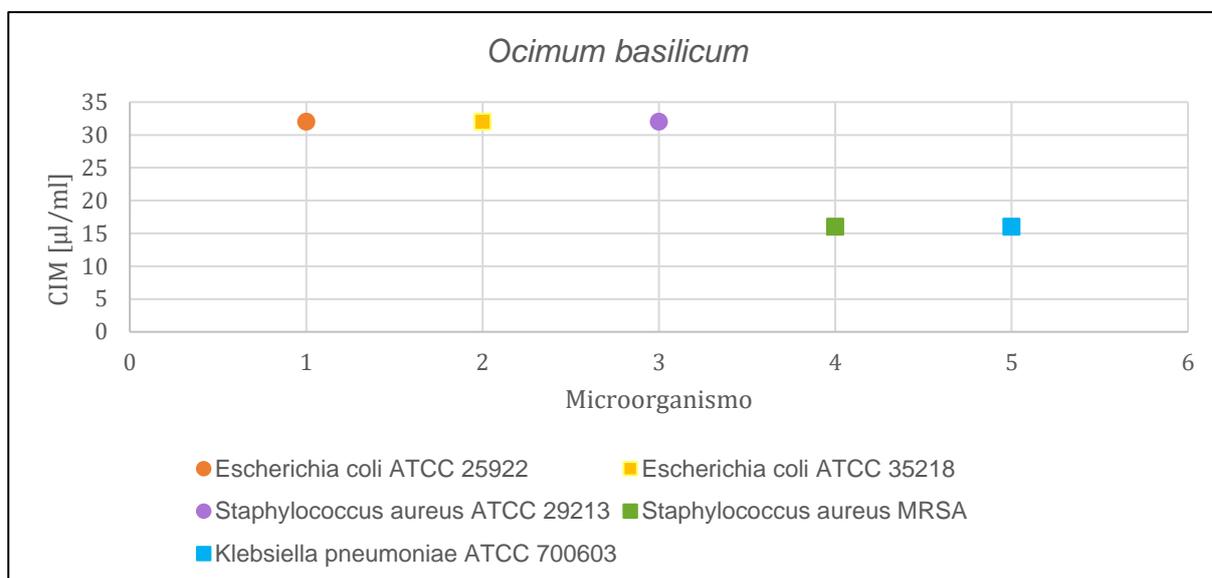
Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

As fotos das placas estão dispostas no Apêndice G.

5.2.2 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE *Ocimum basilicum*

Constatou-se que o OE de Manjeriço obteve valores de CIM de 16 $\mu\text{L/mL}$ apenas para *K. pneumoniae* ATCC 700603 e *S. aureus* MRSA, e obteve valores de CIM $>16 \mu\text{L/mL}$ para as demais cepas bacterianas. Como está ilustrado na Figura 7.

FIGURA 7 – Gráfico do resultado de concentração inibitória mínima do OE de *Ocimum basilicum* (Manjericão)



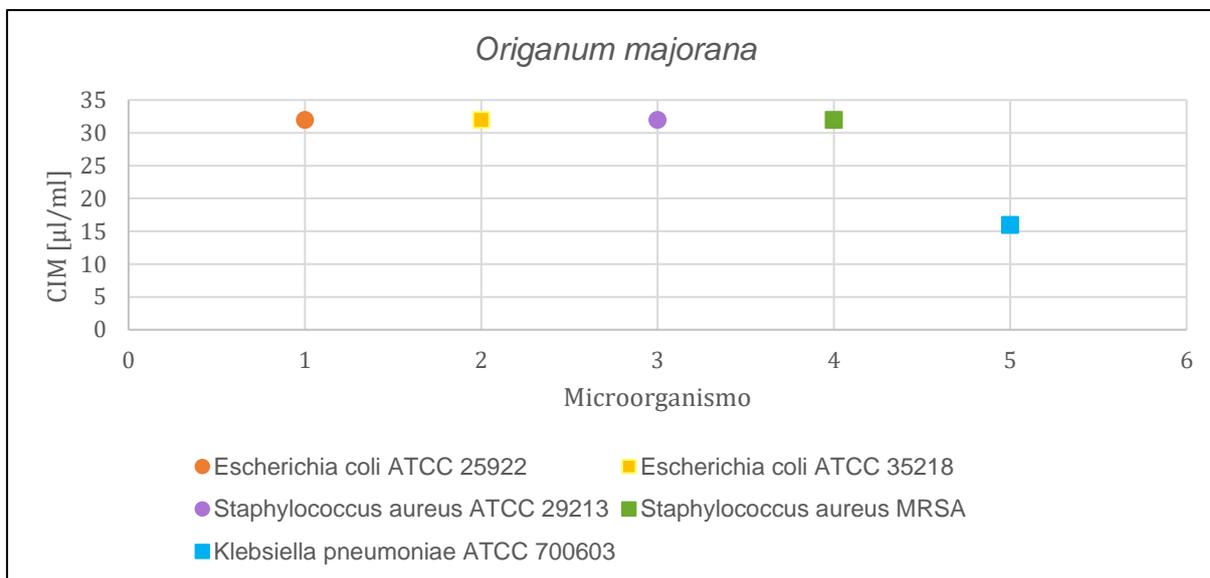
Legenda: Os marcadores quadrados representam as cepas bacterianas resistentes e os marcadores redondos representam as cepas bacterianas não resistentes.

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

5.2.3 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE *Origanum majorana*

Constatou-se que o OE de Manjerona obteve valores de CIM de 16 µL/mL apenas para *K. pneumoniae* ATCC 700603 e obteve valores de CIM >16 µL/mL para as demais cepas bacterianas. Como está ilustrado no gráfico da Figura 8.

FIGURA 8 – Gráfico do resultado de concentração inibitória mínima do OE de *Origanum majorana* (Manjerona)



Legenda: Os marcadores quadrados representam as cepas bacterianas resistentes e os marcadores redondos representam as cepas bacterianas não resistentes.

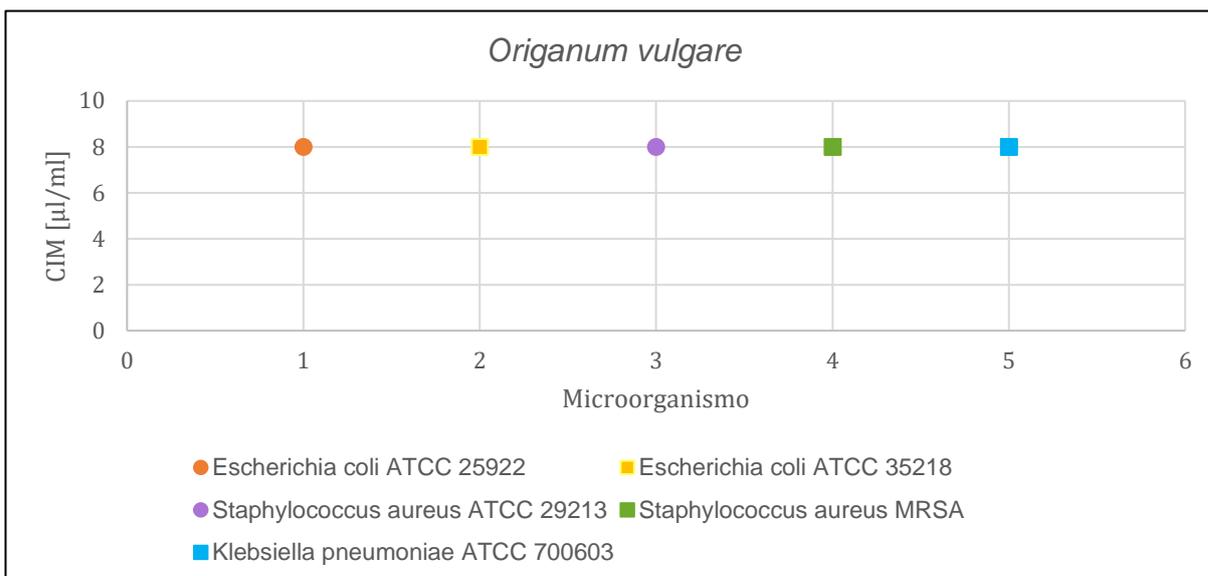
Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

As fotos das placas estão dispostas no Apêndice I.

5.2.4 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE *Origanum vulgare*

Observou-se que o OE de Orégano obteve valores de CIM de 8 $\mu\text{L/mL}$ para todas as cepas bacterianas. Como está ilustrado no gráfico na Figura 9.

FIGURA 9 – Gráfico do resultado de concentração inibitória mínima do OE de *Origanum vulgare* (Orégano)



Legenda: Os marcadores quadrados representam as cepas bacterianas resistentes e os marcadores redondos representam as cepas bacterianas não resistentes.

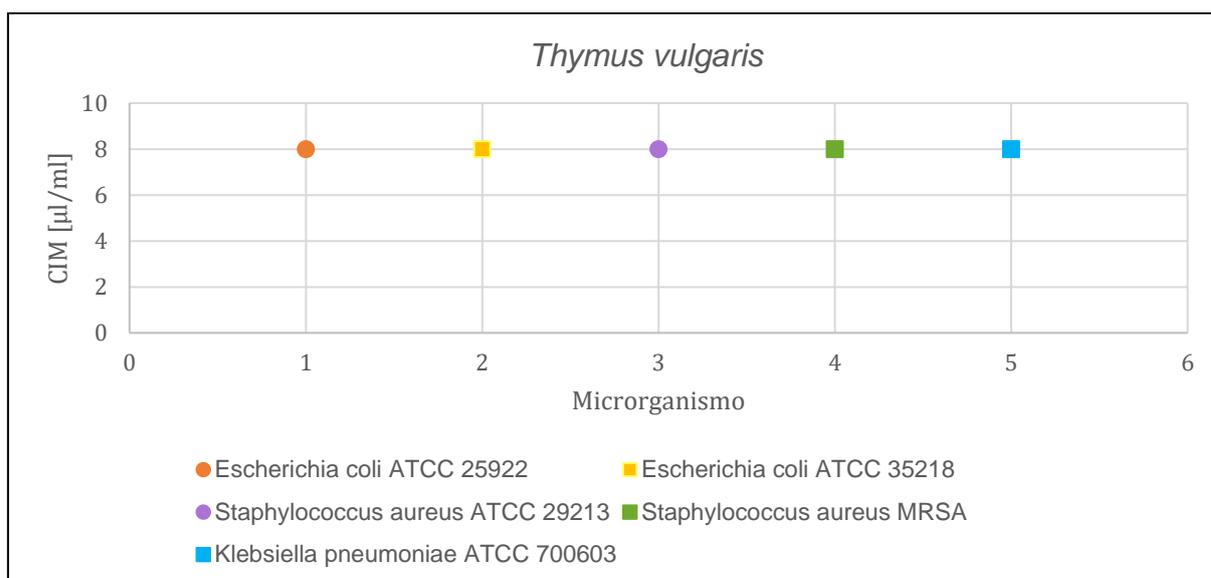
Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

As fotos das placas estão dispostas no Apêndice J.

5.2.5 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE *Thymus vulgaris*

Observou-se que o OE de Tomilho obteve valores de CIM de 8 $\mu\text{L/mL}$ para todas as cepas bacterianas. Como está ilustrado no gráfico na Figura 10.

FIGURA 10 – Gráfico do resultado de concentração inibitória mínima do OE de *Thymus vulgaris* (Tomilho)



Legenda: Os marcadores quadrados representam as cepas bacterianas resistentes e os marcadores redondos representam as cepas bacterianas não resistentes.

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

As fotos das placas estão dispostas no Apêndice K.

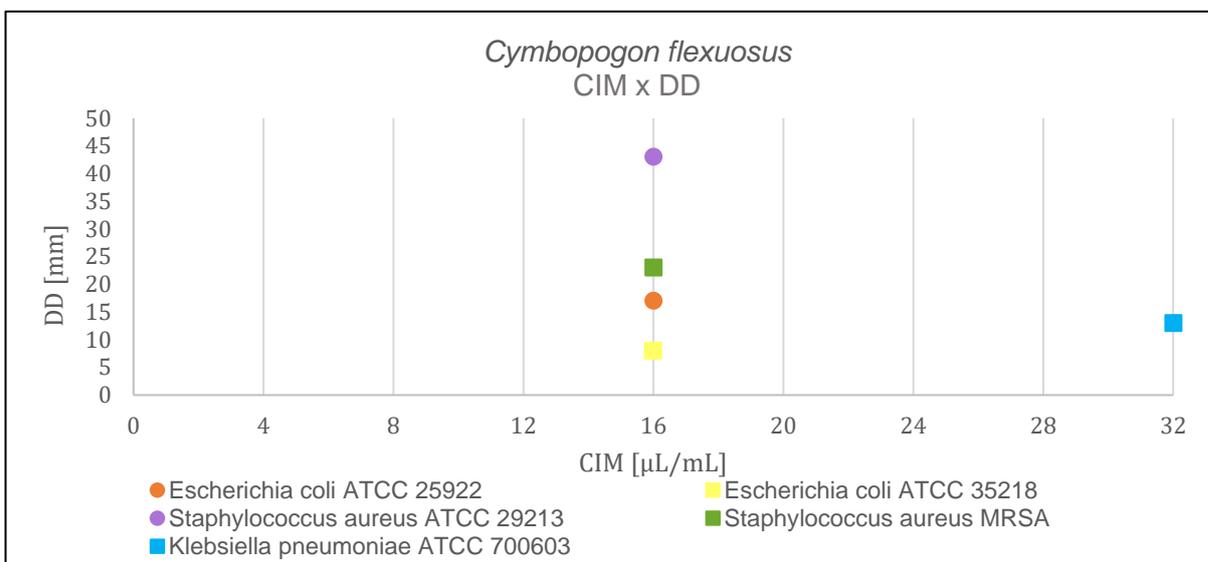
5.3 COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS DOS TESTES DE DISCO-DIFUSÃO E MICRODILUIÇÃO EM CALDO

5.3.1 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE *Cymbopogon flexuosus* NOS TESTES

Para o óleo essencial de Capim-limão pode-se observar que os resultados do teste de difusão de disco encontram-se principalmente na região “muito sensível” e “extremamente sensível”, baseando-se nisso, era esperado que os resultados no teste de concentração inibitória mínima fossem menores, ou seja, com maior potencial de inibição. Assim, observa-se que os resultados foram coerentes, uma vez que o Capim-

limão inibiu o crescimento de quatro dos cinco microrganismo testados. A Figura 11 demonstra o cruzamento dos resultados dos dois testes realizados.

FIGURA 11 – Gráfico do resultados de disco-difusão comparados com resultados de CIM para OE de Capim-limão



Legenda: Os marcadores quadrados representam as cepas bacterianas resistentes e os marcadores redondos representam as cepas bacterianas não resistentes. O valor “32 µL/mL” no eixo horizontal está representando valores de CIM acima de 16 µL/mL.

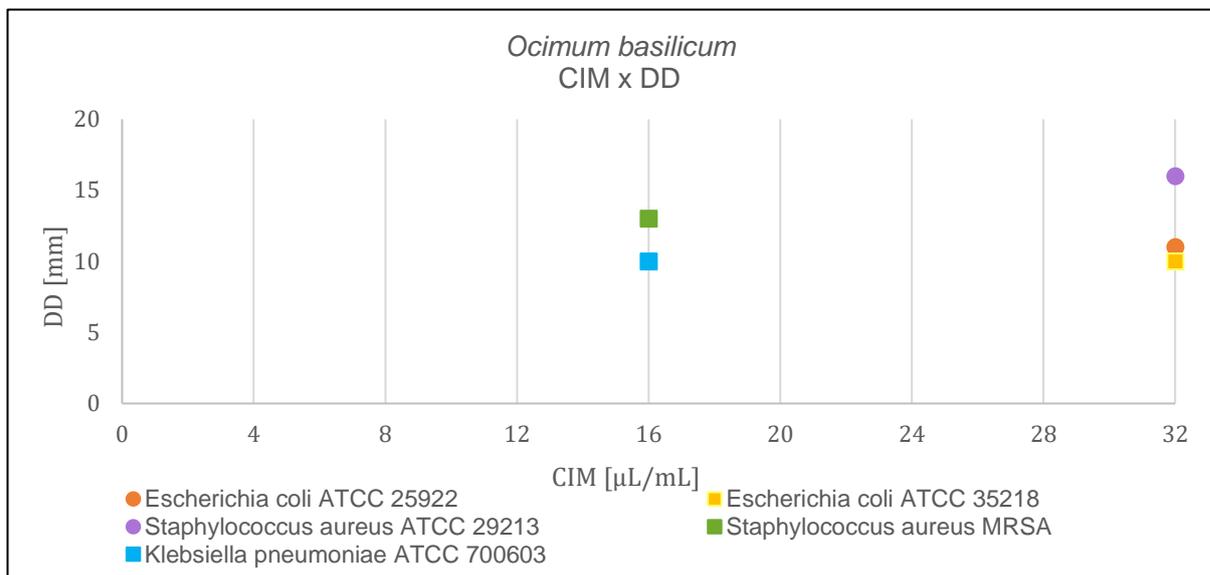
Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

5.3.2 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE *Ocimum basilicum* NOS TESTES

O óleo essencial de Manjeriço apresentou resultados de tamanho de halo de inibição no teste de difusão de disco na região a baixo de 20 mm, ou seja, apenas “sensível” e “muito sensível. Logo, era esperado que esse OE não apresentasse um potencial inibitório tão importante.

O OE de Manjeriço apresentou inibição nas concentrações avaliadas somente em duas cepas bacterianas, como visto na Figura 12. Isto é coerente com o observado no teste de disco-difusão.

FIGURA 12 – Gráfico do resultados de disco-difusão comparados com resultados de CIM para OE de Manjeriçã



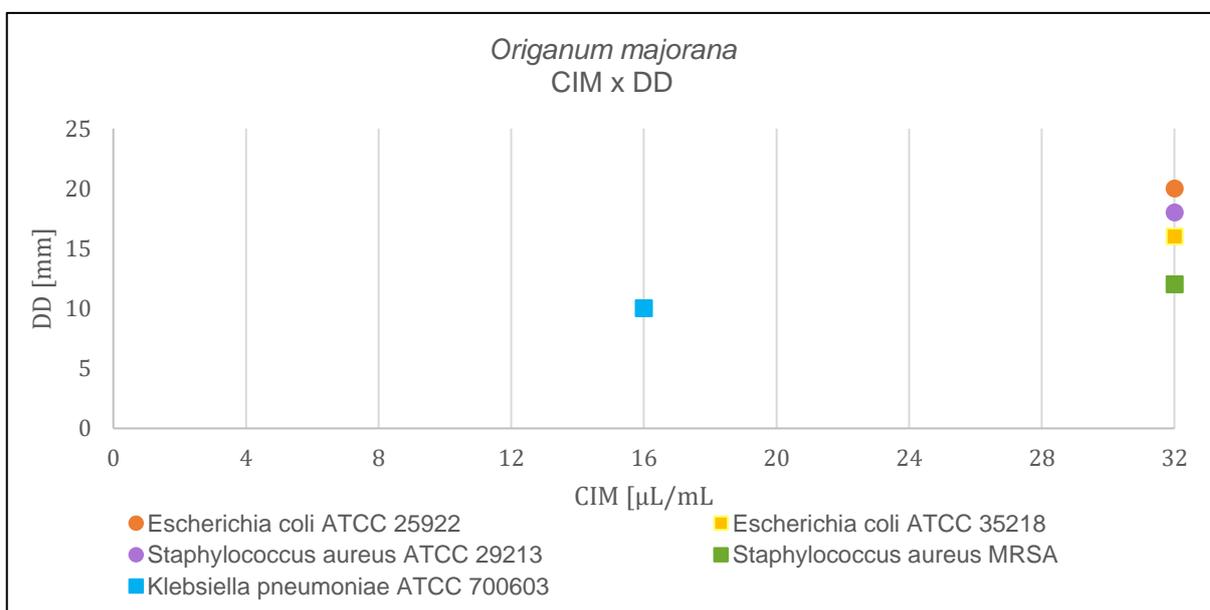
Legenda: Os marcadores quadrados representam as cepas bacterianas resistentes e os marcadores redondos representam as cepas bacterianas não resistentes. O valor “32 µL/mL” no eixo horizontal está representando valores de CIM acima de 16 µL/mL.

Fonte: Elaborada pela autora, 2021.

5.3.3 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE *Origanum majorana* NOS TESTES

Assim como o Manjeriçã, o OE de Manjerona apresentou resultados de tamanho de halo no teste de disco-difusão apenas menor ou igual a 20 mm, na faixa de “sensível a ”muito sensível”, sendo o OE de Manjerona e o OE de Manjeriçã, os dois óleos essenciais (dentre os OEs selecionados para o teste de microdiluição em caldo) com menores valores de halo no teste de DD. Desta forma, a expectativa era de que, dentre os OEs selecionados, esses dois óleos essenciais apresentassem os menores potenciais de inibição. Esta hipótese apresentou-se coerente. Os resultados estão dispostos na Figura 13.

FIGURA 13 – Gráfico do resultados de disco-difusão comparados com resultados de CIM para OE de Manjerona



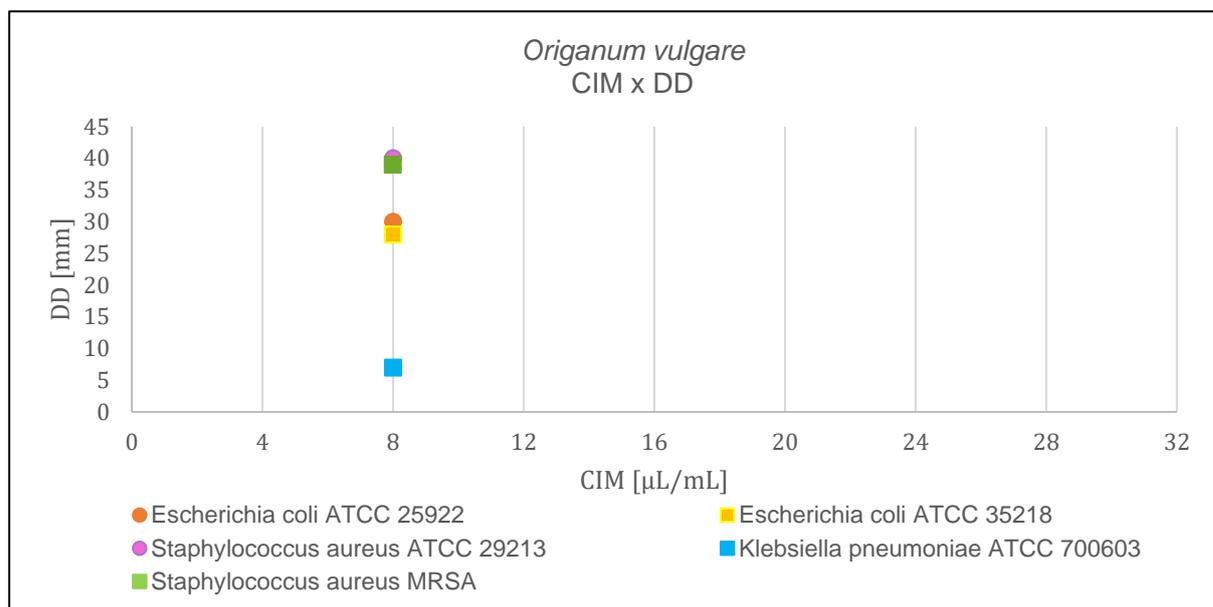
Legenda: Os marcadores quadrados representam as cepas bacterianas resistentes e os marcadores redondos representam as cepas bacterianas não resistentes. O valor “32 $\mu\text{g/mL}$ ” no eixo horizontal está representando valores de CIM acima de 16 $\mu\text{g/mL}$.

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

5.3.4 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE *Origanum vulgare* NOS TESTES

O óleo essencial de Orégano apresentou alguns dos maiores valores de halo de inibição no teste de DD. Sendo assim, a hipótese levantada foi de que esse OE apresentaria um dos menores valores concentração inibitória mínima no teste de microdiluição em caldo. Essa hipótese foi observada no resultado de 8 $\mu\text{g/mL}$ encontrado apenas para este OE e para o OE de Tomilho. Sendo esse valor, o menor valor encontrado de CIM dentre todos os OEs estudados. Os resultados estão dispostos na Figura 14.

FIGURA 14 – Gráfico do resultados de disco-difusão comparados com resultados de CIM para OE de Orégano



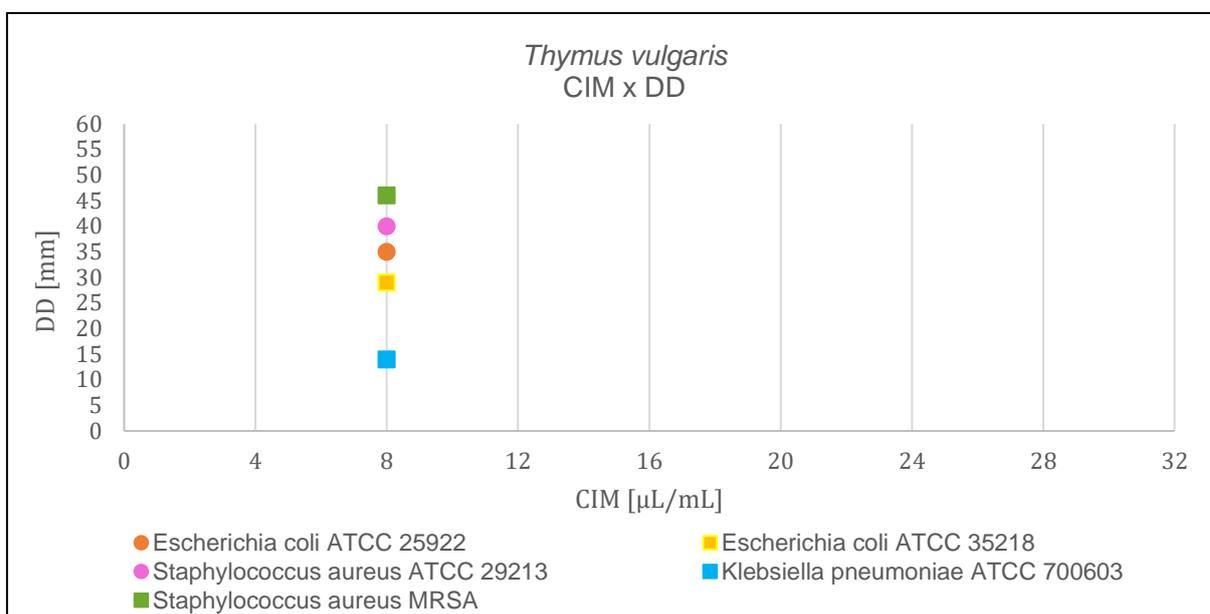
Legenda: Os marcadores quadrados representam as cepas bacterianas resistentes e os marcadores redondos representam as cepas bacterianas não resistentes. O valor “32 µL/mL” no eixo horizontal está representando valores de CIM acima de 16 µL/mL.

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

5.3.5 PERFIL DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO OE DE *Thymus vulgaris* NOS TESTES

As mesmas observações realizadas para o óleo essencial de Orégano podem ser estendidas para o OE de Tomilho, uma vez que, os resultados de DD para o Tomilho foram similares com os resultados de DD para o Orégano. O mesmo pode ser observado para os resultados de CIM para estes óleos essenciais. Os resultados estão dispostos na Figura 15.

FIGURA 15 – Gráfico do resultados de disco-difusão comparados com resultados de CIM para OE de Tomilho



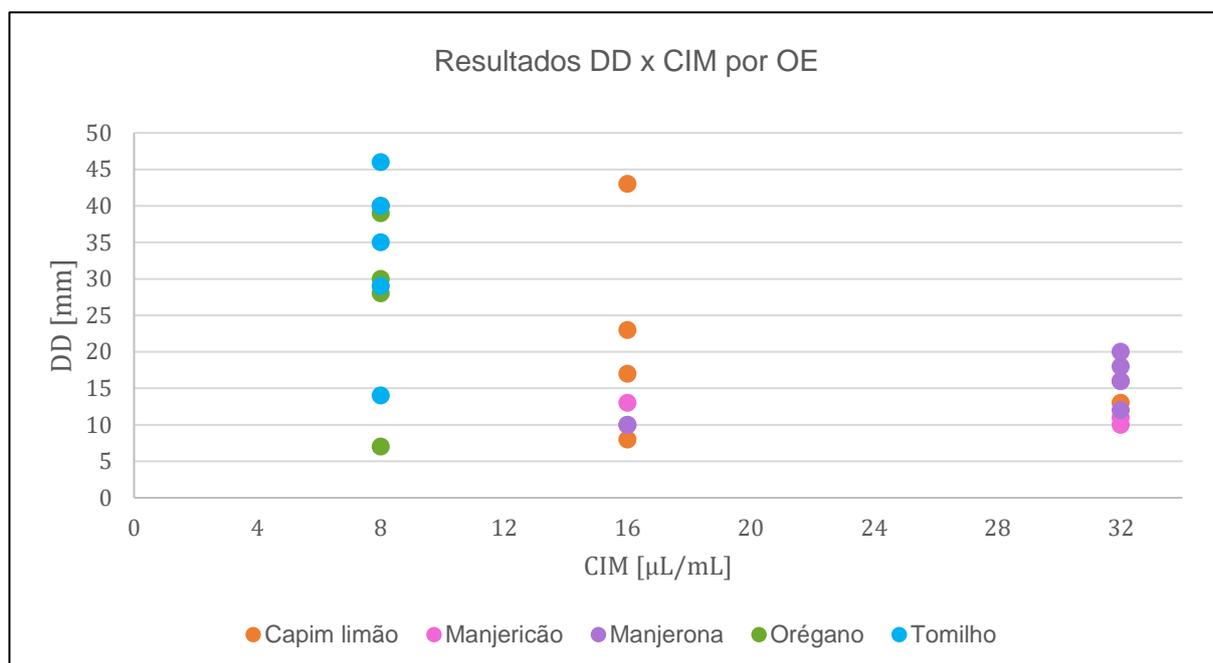
Legenda: Os marcadores quadrados representam as cepas bacterianas resistentes e os marcadores redondos representam as cepas bacterianas não resistentes. O valor “32 $\mu\text{L}/\text{mL}$ ” no eixo horizontal está representando valores de CIM acima de 16 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

Como observado nesta seção, a maior parte dos resultados de CIM igual a 8 $\mu\text{L}/\text{mL}$ estão relacionados com valores de tamanho de halo de inibição de DD na região maior ou igual a 25 mm (extremamente sensível). Os resultados de CIM igual a 16 $\mu\text{L}/\text{mL}$ estão relacionados principalmente com os resultados de tamanho de halo de inibição menores do que 25 mm. Esperou-se que os valores dos dois testes realizados se relacionassem de forma inversamente proporcional.

Os resultados estão dispostos na Figura 16.

FIGURA 16 – Gráfico do resultados de disco-difusão comparados aos resultados de CIM para todos os OEs



Legenda: O valor “32 µL/mL” no eixo horizontal está representando valores de CIM acima de 16 µL/mL.

Fonte: Elaborado pela autora, 2021.

Também pode-se observar que em geral, os menores valores de tamanho de halo de inibição estão relacionados aos óleos essenciais que não apresentaram um valor de CIM dentro do intervalo das concentrações estudadas (0,06 µL/mL a 16 µL/mL)

Isto pode acontecer devido a uma baixa atividade antimicrobiana destes OEs, ou os métodos não foram adequados para estudar tais substâncias.

É notório que a composição fitoquímica dos OEs influencia diretamente na sua atividade antimicrobiana. A composição de cada OE descrita no Quadro 4 foi retirada do laudo cromatográfico dos óleos essenciais realizados pela Universidade Federal de Minas Gerais em 2019 e 2020, disponibilizados pela empresa dos OEs utilizados, Harmonie Aromaterapia LTDA. Destaca-se que as concentrações dos fitoconstituintes podem variar dependendo do tipo de solo, do clima, das práticas agrícolas, da variedade genética da planta e do processo de extração (ARAUJO, 2016).

QUADRO 4 – Óleos essenciais selecionados em ordem alfabética, seus respectivos nomes científicos, famílias e fitoconstituintes

Planta aromática	Família	Composição (%)
Capim-limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>)	Poaceae	Geranial: 41,7; neral: 31,6; acetato de geranila: 3,8; acetato de linalila: 2,6
Copaíba (<i>Copaífera officinalis</i>)	Fabaceae	β -cariofileno: 70,2; α -humuleno: 9,7; β -farneseno: 2,6
Manjericão (<i>Ocimum basilicum</i>)	Lamiaceae	Estragole: 91,0; Eucalyptol: 2,83; α -Farnesene: 2,0
Manjerona (<i>Origanum majorana</i>)	Lamiaceae	Terpinen-4-ol: 28,3; trans-hidrato sabineno: 13,4; γ -terpineno – 11,2; α -terpineno: 5,9; p-cimeno: 3,9; limonen: 3,5
Orégano (<i>Origanum vulgare</i>)	Lamiaceae	Carvacrol: 75,5; p-cimeno: 4,4; β -cariofileno e β -felandreno: 2,4
Pimenta rosa (<i>Schinus terebinthifolius</i>)	Anacardiaceae	δ -3-careno: 32,1; α -felandreno: 12,2; limoneno: 19,1; mirceno: 3,3
Priprioca (<i>Cyperus articulatus</i>)	Cyperaceae	Muscacona: 9,1; α -pineno: 6,3; α -copaeno: 5,0
Salvia esclaréia (<i>Salvia sclarea</i>)	Lamiaceae	Acetato de linalila: 68,5; linalool: 19,3
Sândalo amyris (<i>Amyris balsamifera</i>)	Rutaceae	Valerianol: 20,0; β -eudesmol: 16,5; elemol: 15,9; γ -eudesmol: 6,3
Tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>)	Lamiaceae	Timol: 54,1; p-cimeno: 22,6; linalool: 6,1

Fonte: Adatada pela autora (Certificado de análise química, UFMG, 2020).

Verificou-se que os OEs com melhor perfil de atividade antimicrobiana em ambos os testes realizados, foram os OEs de *Thymus vulgaris* (Tomilho) e *Origanum vulgare* (Orégano), que possuem timol e carvacrol em sua composição, dois compostos com atividade antimicrobiana descrita. No estudo de Andreou et al.,

(2011), foi constatado atividade antibacteriana do OE de *Origanum vulgare* frente às bactérias *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Staphylococcus aureus*. Essa atividade foi associada à presença de carvacrol e timol na composição do OE (RODRIGUEZ-GARCIA et al., 2016). No estudo de Silva et al., (2010) evidencia-se a importância das interações entre os compostos que estão em menor concentração, mostrando que a presença de p-cimeno e γ -terpineno aumenta a ação antimicrobiana de compostos majoritários como o carvacrol e timol. O p-cimeno não tem efeito antibacteriano quando isolado, porém quando utilizado de forma combinada, ele propicia o transporte do carvacrol por meio da membrana citoplasmática para o interior da célula bacteriana (SILVA, 2010).

Como os testes com óleos essenciais não possuem uma padronização, foi necessário adaptar os métodos e técnicas utilizados. Contudo, os ensaios podem ser afetados por diversos fatores, como a própria metodologia utilizada, método de extração dos óleos essenciais, meio de cultura utilizado, pH do meio, tempo de incubação e temperatura, características físico-químicas de cada óleo essencial, variações genéticas de uma mesma espécie vegetal que podem alterar o teor de princípio ativo presente no óleo essencial. E também, propriedades como volatilidade dos OEs, insolubilidade em água, viscosidade e complexidade podem resultar em difusão irregular dos componentes lipofílicos dos óleos e, conseqüentemente, em concentrações desiguais do óleo no agar (NAIFF, 2007).

Em síntese, as plantas medicinais produzem uma variedade de substâncias com propriedades antimicrobianas e espera-se que cada vez mais pesquisas sejam realizadas para encontrar compostos candidatos para o desenvolvimento de novos medicamentos antibióticos (GONÇALVES, 2011).

6. CONCLUSÃO

Diante disso, a pesquisa teve como objetivo geral avaliar a atividade antimicrobiana de OEs frente a espécies de microrganismos de importância clínica, causadores de infecções em comunidade, por meio dos métodos de disco-difusão e microdiluição em caldo. O estudo teve êxito ao verificar que cinco dos dez OEs estudados possuíam atividade antibacteriana e/ou antifúngica, como descrito nos resultados e discussão. Como forma de atingir esse objetivo geral, foi realizada uma revisão da literatura das indicações terapêuticas associadas às propriedades

antimicrobianas dos OEs. Essa pesquisa foi realizada no portfólio disponível no website da empresa Harmonie Aromaterapia LTDA. A partir dessa pesquisa, realizou-se a seleção dos OEs, filtrando-os pelos critérios escolhidos.

A atividade antimicrobiana dos dez óleos essenciais selecionados frente aos MOs foi estudada através do método de disco-difusão. A partir destes resultados de triagem, selecionou-se cinco OEs que tiveram resultados classificados como “sensível”, “muito sensível” e “extremamente sensível”, foram eles: *Cymbopogon flexuosus* (Capim-limão), *Ocimum basilicum* (Manjericão), *Origanum majorana* (Manjerona), *Origanum vulgare* (Orégano), e *Thymus vulgaris* (Tomilho). Avaliou-se então, a concentração inibitória mínima (CIM) dos OEs frente às bactérias pelo método de microdiluição em caldo. Destaca-se os resultados dos menores valores de CIM de 8 µL/mL para os OEs de *Origanum vulgare* (Orégano), e *Thymus vulgaris* (Tomilho).

Levando-se em consideração os aspectos levantados, observou-se que resultados obtidos foram coerentes entre os testes realizados. No entanto, observou-se que para alguns OEs, não encontrou-se valor de concentração inibitória mínima na faixa das concentrações estudadas. Seria importante, portanto, realizar novos testes de determinação de CIM utilizando valores superiores a 16 µL/mL, afim de encontrar valores de CIM mais exatos e precisos.

Dessa forma, conclui-se que existem muitas variáveis envolvidas nos materiais e metodologias realizadas, contudo, o fato de não terem sido observados resultados inibitórios para alguns OEs não invalida novos estudos de cunho microbiológico e farmacológico dessas espécies vegetais. Por fim, este estudo pode contribuir para futuras pesquisas de avaliação do potencial antimicrobiano de plantas, bem como a determinação de parâmetros para padronizar a metodologia e os testes utilizando plantas e óleos essenciais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, A. et al. Approaches for breaking the barriers of drug permeation through transdermal drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 164(1), pp. 26-40. 2012
- ALEXOPOULOS, A.; KIMBARIS, A.C.; PLESSAS, S.; MANTZOURANI, I.; THEODORIDOU, I.; STAYROPOULOU, E.; POLISSIOU, M.G.; BEZIRTZOGLU, E. Antibacterial activities of essential oils from eight Greek aromatic plants against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. **Anaerobe**, v.17, n.6, p.399-402, 2011.
- ANDREOU, E., ALEXOPOULOS, E. C., LIONIS, C., VARVOGLI, L., GNARDELLIS, C., CHROUSOS, G. P., & DARVIRI, C. Perceived Stress Scale: **Reliability and validity study in Greece. International Journal of Environmental Research and Public Health**, 8(8), 3287–3298. 2011
- ARAUJO, Márcio Martins de ; LONGO, Priscila Larcher. Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (Orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, n. 0, 2016.
- AVILA LUPE, Fernanda; E. S. BARATA, LAURO. Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da amazônia. [s.l.]: 2007
- AYRES, Mariane C. C.; BRANDÃO, Marcela S.; VIEIRA-JÚNIOR, Gerardo M.; *et al.* Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 1, 2008.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; *et al.* Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.
- BARBOSA, L. N.; PROBST, I. S.; ANDRADE, B. F. M. T.; ALVES, F. C. B.; ALBANO, M.; CUNHA, M. L. R. S.; DOYAMA, J. T.; RALL, V. L. M.; JÚNIOR, A. F. In vitro antibacterial and chemical properties of essential oils including native plants from Brazil against pathogenic and resistant bacteria. **Journal of Oleo Science**. 64(3):289–298, 2015.
- BAUDOUX, D. O grande manual da aromaterapia de Dominique Baudoux. Belo Horizonte: **Ed Laszlo**. 2018. 674 p.
- BERSAN, Salete MF; GALVÃO, Livia CC; GOES, Vivian FF; *et al.* Action of essential oils from Brazilian native and exotic medicinal species on oral biofilms. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 1, 2014.
- BILLIPS, B. K. et al. A live-attenuated vaccine for the treatment of urinary tract infection by uropathogenic *Escherichia coli*. **The Journal of Infectious Diseases**, Estados Unidos, v. 200, n. 2, p. 263-272, jul. 2009.
- Bnyan, I., Abid, A., & Obied, H. Antibacterial activity of carvacrol against different types of bacteria. *Journal of Natural Science Research*, 4, 13–16, 2014.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Secretaria de Comércio Exterior. **Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior via Internet:** AliceWeb. 2020b. Disponível em: <<http://aliceweb2.mdic.gov.br/>>. Acesso em: 01 Nov. 2020

BRAZ FILHO, Raimundo. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229–239, 2010.

BRITO, A. M. G.; RODRIGUES, S. A.; BRITO, R. G.; *et al.* AROMATERAPIA: DA GÊNESE A ATUALIDADE. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4 suppl 1, p. 789–793, 2013.

BUCK L, AXEL R. Uma nova família multigênica pode codificar receptores de odor: uma base molecular para reconhecimento de odor. **Cell**, 65: 175-87. 1991

BUCKLE, J. Aromaterapia clínica: Óleos essenciais no cuidado da saúde. Belo Horizonte: Laszlo. 2019. 680 p. 2019

BURT, Sara. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, 2004.

BUSATTA, C.; VIDAL, R.S.; POPIOLSKI, A.S.; *et al.* Application of Origanum majorana L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. **Food Microbiology**, v. 25, n. 1, p. 207–211, 2008.

CAIRUS, HF. O Corpus Hippocraticum. In: CAIRUS, HF., and RIBEIRO JR., WA. Textos hipocráticos: o doente, o médico e a doença [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ. **História e Saúde collection**, pp. 25-38. ISBN 978-85-7541-375-3. 2005

CECHETTI, Eulalia. CONSIDERAÇÕES REFERENTES AO USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO CLIMATÉRIO. [s.l.]: , 2020.

CELIKEL, N. ; KAVAS, G. Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 26, n. No. 3, p. 174–181, 2008.

CHANTZIARAS, I.; BOYEN, F.; CALLENS, B.; *et al.* Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 3, p. 827–834, 2013.

CHAVAN, P. S., & TUPE, S. G. Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. **Food Control**, 46, 115–120, 2014.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard, 11th ed. **CLSI document M7-A11**. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2018

COGO, LAURA LÚCIA. Caracterização molecular de genes de virulência de isolados clínicos de *Helicobacter Pylori* e determinação da atividade antimicrobiana in vitro de diferentes fitoterápicos utilizados na medicina popular brasileira. [s.l.: s.n.], 2008.

CONNER, D.E. Naturally Occurring Compounds. In: Davidson, P.M. and Branen, A.L, Eds. **Antimicrobials in Foods**. New York, Marcel Dekker Inc., pp. 441-468, 1993.

COSTA, Adalberto Coelho da; SANTOS, Bernadete Helena Cavalcanti dos; SANTOS FILHO, Lauro; *et al.* Antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) against bacterial multiresistant strains isolated from nosocomial patients. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1b, p. 236–241, 2009.

COSTA, C.M.G.R.; SANTOS, M.S.; BARROS, H.M.M.;C.; FIGUEIRA, G.M.; DUARTE, M.C.T.; REHDER, V.L.G.; Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.35, p.275-280, 2004.

CRISTINA, Marta; DUARTE, Teixeira. **Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil**. [s.l.]: Revista MultiCiência, 2006.

CUI, Haiying; ZHANG, Xuejing; ZHOU, Hui; *et al.* Antimicrobial activity and mechanisms of *Salvia sclarea* essential oil. **Botanical Studies**, v. 56, n. 1, p. 16, 2015.

CUNHA, A. *et al.* Plantas e Produtos Vegetais em Cosmética e Dermatologia. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 2004.

DAHIYA, P.; MANGLIK, A.Evaluation of antibacterial, antifungal and antioxidant potential of essential oil from *Amyris balsamifera* against multi drug resistant clinical isolates. **Asian Journal of Pharmaceutical and clinical research**. 2013.

DAMTIE D, MEKONNEN Y. Antibacterial activity of essential oils from Ethiopian thyme (*Thymus serrulatus* and *Thymus schimperii*) against tooth decay bacteria. **PLoS One**.9;15(10):e0239775. 2020.

DE LA CRUZ, M.G.F. Plantas medicinais utilizadas por raizeiros uma abordagem etnobotânica no contexto da saúde e doença [dissertação]. Cuiabá (MG): Universidade Geral do Mato Grosso, 1997.

DIDRY N., DUBREUIL L., PINKAS M. Activé antibactérienne du thymol, du carvacrol et de l'aldéhyde cinnamique seuls ou associés (Antibacterial activity of thymol, carvacrol and cinnamaldehyde singly or in combinations), **Pharmazie** 48: 301-304, 1993.

DIEFENBACH, Ana Lúcia; MUNIZ, Francisco Wilker Mustafa Gomes; OBALLE, Harry Juan Rivera; *et al.* Antimicrobial activity of copaiba oil (*copaifera* ssp.) on oral pathogens: systematic review. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 4, p. 586–596, 2017.

EBANI, Valentina; NARDONI, Simona; BERTELLONI, Fabrizio; *et al.* Antimicrobial Activity of Five Essential Oils against Bacteria and Fungi Responsible for Urinary Tract Infections. **Molecules**, v. 23, n. 7, p. 1668, 2018.

EBANI, Valentina; NARDONI, Simona; BERTELLONI, Fabrizio; *et al.* Antibacterial and Antifungal Activity of Essential Oils against Pathogens Responsible for Otitis Externa in Dogs and Cats. **Medicines**, v. 4, n. 2, p. 21, 2017.

EDRIS, Amr E. Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research**, v. 21, n. 4, p. 308–323, 2007.

EL-MASSRY, Khaled F.; EL-GHORAB, Ahmed H.; SHAABAN, Hamdy A.; *et al.* Chemical Compositions and Antioxidant/Antimicrobial Activities of Various Samples Prepared from *Schinus terebinthifolius* Leaves Cultivated in Egypt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 12, p. 5265–5270, 2009.

FERRAZ, J. B. S.; BARATA, L. E. S.; SAMPAIO, P. B.; GUIMARÃES, G. P. Perfumes da floresta Amazônica: em busca de uma alternativa sustentável. **Ciência e Cultura**, v. 61, n. 3, p. 45-53, 2009.

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v.23, n.4, p. 213-26, 2008.

FREIRE, I.C.M.; PÉREZ, A.L.A.L.; CARDOSO, A.M.R.; *et al.* Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2 suppl 1, p. 372–377, 2014.

GAO, Shanjun; LIU, Guangzhi; LI, Jianguo; *et al.* Antimicrobial Activity of Lemongrass Essential Oil (*Cymbopogon flexuosus*) and Its Active Component Citral Against Dual-Species Biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Candida* Species. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 603858, 2020.

GNATTA, J. R. *et al.* Aromaterapia e enfermagem: concepção histórico-teórica. **Rev. Esc Enferm USP**, v. 50, n.1, p. 130-136, 2016.

GOMES, Fernanda; DIAS, Maria Inês; LIMA, Ângela; *et al.* *Satureja montana* L. and *Origanum majorana* L. Decoctions: Antimicrobial Activity, Mode of Action and Phenolic Characterization. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v. 9, n. 6, 2020.

GONCALVES, D.M *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do extrato de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 197-202, 2011.

HELANDER, Ilkka M.; ALAKOMI, Hanna-Leena; LATVA-KALA, Kyösti; *et al.* Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 9, p. 3590–3595, 1998.

HENDERSON KL, MÜLLER-PEBODY B, JOHNSON AP, WADE A, SHARLAND M, GILBERT R. Community-acquired, healthcare-associated and hospital-acquired bloodstream infection definitions in children: a systematic review demonstrating inconsistent criteria. **J Hosp Infect.**, 85(2):94-105, 2013.

HOARE, J. **Guia completo de aromaterapia**: um curso estruturado para alcançar a excelência profissional. São Paulo: Ed. Pensamento, 256 p, 2010.

HOLETZ FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DAG, Nakamura CV, Dias Filho BP. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Mem Inst Oswaldo Cruz.**97(7):1027-31, 2002.

HOROWITZ, S. Aromatherapy: current and emerging applications. **Alternative and complementary alternatives.** 17(1): 26:31, 2011.

KAČÁNIOVÁ, Miroslava; TEREŇJEVA, Margarita; ŠTEFÁNIKOVÁ, Jana; *et al.* Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Selected Essential Oils against *Staphylococcus* spp. Isolated from Human Semen. **Antibiotics**, v. 9, n. 11, p. 765, 2020.

KATZUNG, B.G. Farmacologia Básica & Clínica, eighth ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ). C. 2003.

KOTAN, Recep; KORDALI, Saban ; ÇAKIR, Ahmet. Screening of antibacterial activities of twenty-one oxygenated monoterpenes. **Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences**, v. 62, n. 7-8, p. 507–513, 2007.

LAVABRE, M. Aromaterapia: a cura pelos óleos essenciais. Belo Horizonte: **Ed Laszlo**, 2018.

LEYVA-LÓPEZ, Nayely; GUTIÉRREZ-GRIJALVA, Erick P; VAZQUEZ-OLIVO, Gabriela; *et al.* Essential Oils of Oregano: Biological Activity beyond Their Antimicrobial Properties. **Molecules**, v. 22, n. 6, p. 989, 2017.

LI et al. Arabidopsis mutants are hypersensitive to UV-B radiation. **Plant Cell** 5: 171-179. 1993.

LIMA, I.O. et al. Atividade antifúngica e óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.16, n.2, p.197-201, 2006.

LIU, Qing; MENG, Xiao; LI, Ya; *et al.* Antibacterial and Antifungal Activities of Spices. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 6, p. 1283, 2017

LYRA, Cassandra Santantonio. **A Aromaterapia Científica na Visão Psiconeuroendocrinoimunológica**: Um Panorama Atual da Aromaterapia Clínica e Científica no Mundo e da Psiconeuroendocrinoimunologia. 2009. 174 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MANUAL de Antibiograma, segundo BRCAS – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Rev 00– 06/2019. Disponível em <<http://brcast.org.br/documentos/>> Acesso em 23 Set. 2020.

MARTINS, André Gustavo Lima de Almeida; NASCIMENTO, Adenilde Ribeiro; MOUCHREK FILHO, João Elias; *et al.* Atividade antibacteriana do óleo essencial do Manjeriço frente a sorogrupos de *Escherichia coli* enteropatogênica isolados de alfaces. **Ciência Rural**, v. 40, n. 8, p. 1791–1796, 2010.

MCMURRY, J. 7^o Ed. Química Orgânica - Combo. São Paulo: Cengage Learning, 1344 p. 2011

MENEZES, T. O. DE A., ALVES, A. C. B. A., VIEIRA, J. M. DOS S., MENEZES, S. A. F. DE, ALVES, B. P., & MENDONÇA, L. C. de V. Avaliação *in vitro* da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. 38(3), 184–191, 2009

MILLER, R.A.I. A utilização ritual e mágica dos perfumes. Rio de Janeiro: **Record**, 1991.

MILOS, M., & MAKOTA, D. Investigation of antioxidant synergisms and antagonisms among thymol, carvacrol, thymoquinone and p-cymene in a model system using the Briggs–Rauscher oscillating reaction. **Food Chemistry**, 131(1), 296–299, 2012.

MINISTÉRIO, da Saúde. Portaria nº 3.916, de 30 de outubro de 1998. Aprova a política nacional de medicamentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 nov. Seção 1, p. 18, 1998.

MINISTÉRIO, da Saúde. Secretaria Executiva. Política Nacional de Medicina Natural e Práticas Complementares (PMNPC). Brasília, 14 p. 2005.

MIRANDA, Cíntia Alvarenga Santos Fraga; CARDOSO, Maria das Graças; BATISTA, Luís Roberto; *et al.* Essential Oils From Leaves of Various Species: Antioxidant and Antibacterial Properties on Growth in Pathogenic Species. **REVISTA CIÊNCIA AGRONÔMICA**, v. 47, n. 1, 2016.

MISHRA, A. P., SALEHI, B., SHARIFI-RAD, M., PEZZANI, R., KOBARFARD, F., SHARIFI-RAD, J., & NIGAM, M. Programmed cell death, from a cancer perspective: An overview. **Molecular Diagnosis & Therapy**, 1–15. 2018

MONTOYA, J. O. C.; FLÓREZ, J. E. M. Phytochemical variability between Colombian accessions of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown. **Revista de Investigación Agraria y Ambiental**, v. 7, n. 2, 2016

MOREIRA, M.R. *et al.* Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. **LWT- Food Science and Technology**, v.38, n.5, p.565-570, 2005.

NACIONAL, Agência; SANITÁRIA, Vigilância. Plano nacional para a prevenção e o controle da resistência microbiana nos serviços de saúde. [s.l.: s.n.], 2017.

NAIFF, Nei, NASCIMENTO, Paula F.C. *et al.* São Paulo: Ed. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108–113, 2007.

NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003, Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/servicos/mau/manuais/clsi/clsi_opasm7_a6.pdf> Acesso em 20 Set. 2020.

NOSTRO, A.; PAPALIA, T.; Antimicrobial Activity of Carvacrol: Current Progress and Future Prospectives. *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov*, 7, 28-35, 2012.

OLADUSU IA, USMAN LA, OLAWORE NO, ATATA RF: Antibacterial activity of rhizomes essential oils of types of *Cyperus articulatus* Growing in Nigeria. *Ad Bio Res*, 5 (Suppl 3):179–183, 2011.

OLIVEIRA, F.Q.; GOBIRA, B.; GUIMARÃES, C.; BATISTA, J.; BARRETO, M.; SOUZA, M. Espécies vegetais indicadas na odontologia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.17, n.3, p.466-476, 2007.

ORCHARD, Ané; VILJOEN, Alvaro ; VAN VUUREN, Sandy. Antimicrobial Essential Oil Combinations to Combat Foot Odour. *Planta Medica*, v. 84, n. 9-10, p. 662–673, 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. *Microbe Magazine*, v. 10, n. 9, p. 354–355, 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE/UNICEF. Cuidados Primários de Saúde. Relatório da Conferência Internacional sobre Cuidados Primários da Saúde, Alma-Ata, URSS, 6 a 12 de setembro de 1978. Brasília: Ministério da Saúde, 64p.1979.

OSTROSKY, Elissa A. et al . Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Rev. bras. farmacogn.*, João Pessoa, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

OZKAN, A., & ERDOGAN, A. A comparative evaluation of antioxidant and anticancer activity of essential oil from *Origanum onites* (Lamiaceae) and its two major phenolic components. *Turkish Journal of Biology*, 35(6), 735–742, 2011.

PAULA, C. C. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro e in vivo de avaliação da atividade antimicrobiana in vitro e in vivo de *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (Margaridinha do Campo) e *Macrosiphonia velame* (A. St.-Hil.) Müll. Arg. (Velame Branco) [Dissertação]. Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso, 2010.

PEREIRA DA CRUZ, Marta; RODRIGUES, Andréia; DA COSTA VALLE, Moura; et al. **Prevalência de infecções comunitárias: revisão integrativa**. v. 8, n. 4, p. 181-190: *Revista Interdisciplinar*, 2015.

PETRY, Daiana, Diluição de óleos essenciais: Prepare formulações eficientes e seguras com eles, *Harmonie Aromaterapia*, disponível em: <<https://blog.harmoniearomaterapia.com.br/diluicao-de-oleos-essenciais>>, Acesso em: 25 abril 2021.

Plano de ação nacional de prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos no âmbito da saúde única 2018-2022 (PAN-BR) [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 24 p, 2019.

PRICE, J. *Praktische aromatherapie*. Neuhausen Suíça: Urania, 1994.

PROBST, I.S.; SFORCIN, J.M.; RALL, V.L.M.; FERNANDES, A.A.H.; FERNANDES JÚNIOR A. Antimicrobial activity of própolis and essential oils and synergism between these natural products. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Disease*. v.17, p. 159-167, 2011.

RABINOVITCH, Leon; JUSTO DE OLIVEIRA, Edmar. **Coletânea de procedimentos técnicos e metodologias empregadas para o estudo de bacillus e gêneros esporulados aeróbios correlatos autores**. [s.l.: s.n.], 2015.

RAUT, Jayant Shankar; KARUPPAYIL, Sankunny Mohan. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 250–264, 2014.

REIS, Juliana Borges; FIGUEIREDO, Luana Amaral; CASTORANI, Giuliana Martina; *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 1, p. 342–363, 2020.

RITA, Ana; MONTEIRO, Pinto, Atividade antimicrobiana de óleos essenciais, [s.l.: s.n.], 1AD, 2015.

RODRIGUEZ-GARCIA, I., SILVA-ESPINOZA, B. A., ORTEGA-RAMIREZ, L. A., LEYVA, J.M., SIDDIQUI, M. W., CRUZ-VALENZUELA, M. R., ... AYALA-ZAVALA, J. F. Oregano essential oil as an antimicrobial and antioxidant additive in food products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 56(10), 1717–1727. 2016.

SAKKAS, Hercules ; PAPADOPOULOU, Chrissanthy. Antimicrobial Activity of Basil, Oregano, and Thyme Essential Oils. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, n. 3, p. 429–438, 2017.

SANTURIO, Deise Flores; COSTA, Mateus Matiuuzzi da; MABONI, Grazieli; *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves e bovinos. **Ciência Rural**, v. 41, n. 6, p. 1051–1056, 2011.

SCHNAUBELT, Kurt. *Aromaterapia Médica: curando com os óleos essenciais*. Tradução: Emília Kiyohara. Belo Horizonte: Ed. Laszlo, 2019.

SHARIFI-RAD, Mehdi; VARONI, Elena Maria; IRITI, Marcello; *et al.* Carvacrol and human health: A comprehensive review. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 9, p. 1675–1687, 2018.

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. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.30, p.136-141, 2010.

SILVEIRA, Sheila Mello da et al . Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Eucalyptus paniculata* (eucalipto) e *Lavandula angustifolia* (lavanda). **Rev. Inst. Adolfo Lutz** (Impr.), São Paulo, v. 71, n. 3, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre, Ed. Da Universidade UFRGS, 1999.

SIMÕES, M; BENNETT, RN; ROSA, EAS. Understanding antimicrobial activities of phytochemicals against multidrug resistant bacteria and biofilms. **Natural Products Report**, v.26, n.6, p. 746-57, 2009.

SMID, E. J., KOEKEN, J. G. P., & GORRIS, L. G. M. 1996. Fungicidal and fungistatic action of the secondary plant metabolites cinnamaldehyde and carvone. In H. Lyr, P. E. Russell, & H. D. Sisler (Eds.), **'Modern Fungicides and Antifungal Compounds'** pp. 173-180, 1996.

SOLÓRZANO-SANTOS, Fortino ; MIRANDA-NOVALES, Maria Guadalupe. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 136–141, 2012.

TAVARES, J. A. Projeto, construção, testes e operação de um extrator de óleos vegetais. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2007.

TISSERAND, R. Aromaterapia para todos. Belo Horizonte: Ed Laszlo, 252 p. 2017
Tradução: Emília Kiyohara. Belo Horizonte: **Ed. Laszlo**, 2019.

ULTEE, A.; BENNINK, M.H.J.; MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Appl. Environ. Microbiol.**, 68, 1561–1568, 2002

Um panorama atual da aromaterapia clínica e científica no mundo e da
VALERIANO, C.; PICCOLI, R.H.; CARDOSO, M.G.; *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 57–67, 2012.

VAN BOECKEL TP, BROWER C, GILBERT M, GRENFELL BT, LEVIN SA, ROBINSON TP, et al. **Global trends in antimicrobial use in food animals**. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112(18):5649-54, 2015.

WIŃSKA, Katarzyna; MAĆZKA, Wanda; ŁYCZKO, Jacek; *et al.* Essential Oils as Antimicrobial Agents—Myth or Real Alternative? **Molecules**, v. 24, n. 11, p. 2130, 2019.

8. APÊNDICES

8.1 APÊNDICE A – QUADRO DE REVISÃO DOS OEs COM ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DESCRITA

Óleo essencial	Nome científico	Uso de acordo com prática clínica	País de origem	Preço (R\$)	Contraindicações
Angélica	<i>Angélica archangelica</i>	Bactericida, fungicida, atua contra resfriados e contra cândida e outros.	Bélgica	85	Contraindicado para gestantes. É fotossensibilizante
Bergamota	<i>Citrus bergamia</i>	Cistite, resfriado e gripe	Itália	59	É fotossensibilizante. Contraindicado para crianças de até 2 anos.
Cedro Atlas	<i>Cedrus atlantica</i>	Bronquite e tosse, dermatite, infecção cutânea, genitália e urinária.	Marrocos	32	Considerado seguro.
Cenoura semente	<i>Daucus carota sativus</i>	Dermatite, eczema	França	57	Contraindicado para gestantes, lactantes e crianças.
Citronela	<i>Cymbopogon winterianus</i>	Antifúngico, inibe os bacilos que produzem o mau odor nos pés.	Índia	24,5	Não utilizar em concentrações maiores que 18% em aplicações dérmicas.
Cipreste	<i>Cupressus sempervirens</i>	Fungicida, acne	Espanha	49	Contraindicado para uso em trabalho de parto e gestantes. Evitar uso com Paracetamol.
Copaiba resina	<i>Copaifera officinalis</i>	Acne, eczema, antibiótico, bronquite, fungicida, trata herpes, furúnculos e fungos na pele e unha.	Brasil - Amazônia	16,5	Considerado seguro.
Cravo folhas	<i>Eugenia caryophyllus</i>	Micose	Madagascar	21,5	Contraindicado para hipertensos, epiléticos, gestantes, crianças com menos de 2 anos e usuários de medicamentos anticoagulantes. Contraindicado para casos de doença hepática e renal. Irritante de pele e mucosas.
Elemi	<i>Canarium luzonicum</i>	Infecções e inflamações urinárias crônicas, sinusite, e bronquite	França	62	Não utilize em excesso.

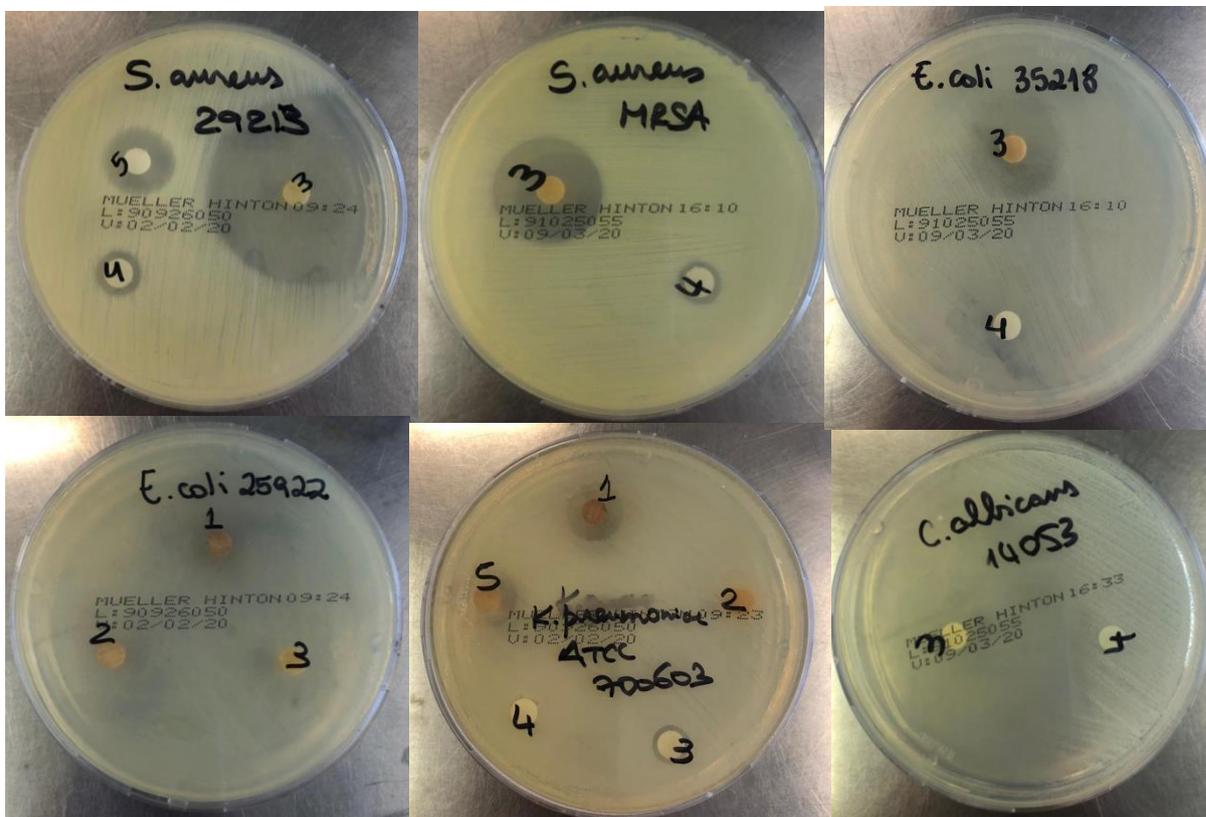
Óleo essencial	Nome científico	Uso de acordo com prática clínica	País de origem	Preço (R\$)	Contraindicações
Eucalipto globulus	(<i>Eucalyptus globulus</i>)	Antimicrobiano, ajuda em casos de infecções na garganta e herpes	China	27,5	Contraindicado para crianças até 6 anos
Ládano	<i>Cistus ladaniferus</i>	Antisséptico, indicado para o tratamento de feridas purulentas, psoríase, eczema, acne e inflamações cutâneas em geral.	Espanha	71	Considerado seguro.
Lavanda	<i>Lavandula angustifolia</i>	Trata acne, micose, combate dermatite, furúnculos, pé de atleta, eczemas, sinusite	França	57	Considerado seguro.
Lavandim	<i>Lavandula hybrida grosso</i>	Sinusite, antisséptico, acne		43	Contraindicado para hipertensos, epiléticos, gestantes, lactantes, crianças com até 3 anos.
Lemongrass	<i>Cymbopogon flexuosus</i>	Fungicida e bactericida, combate pé de atleta e é desodorante	Índia	29	Pode interagir com medicamentos alfentanil metadona propofol valproate bupropion tamoxifennicotina; efavirenz e nevirapine cyclophosphamida hipoglicemiantes.
Louro	<i>Laurus nobilis</i>)	Ameniza os sintomas da gripe e problemas respiratórios, como bronquite aguda.		44	Contraindicado para gestantes e crianças de até 7 anos
May Chang	<i>Litsea cubeba</i>	Antibacteriano, antiviral, antifúngico	China	35	Pode interagir com medicamentos alfentanil, metadona, propofol, valproate, bupropion, tamoxifen, nicotina, efavirenz e nevirapine, cyclophosphamida, hipoglicemiantes.
Manjerona	<i>Origanum majorana</i>	É antifúngico e bactericida de amplo espectro	Egito	44	Contraindicado para gestantes.

Óleo essencial	Nome científico	Uso de acordo com prática clínica	País de origem	Preço (R\$)	Contraindicações
Mirra	<i>Commiphora myrrham</i>	Fungicida combate micoses e outras doenças fúngicas da pele	Somália	85	Contraindicado para gestantes e lactantes.
Olibano	<i>Boswellia carterii</i>	Tem propriedades antibacterianas e antifúngicas	Somália	80	Evite o uso em excesso.
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	Atua contra candida albicans. Anti-infeccioso. Gripes, resfriados e tosse.	Espanha	66	Não utilize com gestantes e crianças abaixo de 2 anos.
Palmarosa	<i>Pogosteo cablin</i>	Fungicida e combate pé de atleta.	Índia	42	Pode irritar a pele e a mucosa se utilizado mais de 0,5% em formulações para aplicação facial.
Petitgrain:	<i>Citrus aurantium</i>	Eczema, acne, antibacteriano	Paraguai	45	Considerado seguro
Patchouli	<i>Pogostemon cablin</i>	Problemas cutâneos como acne, caspa, dermatites em geral, eczemas, ulcerações, feridas inflamadas. Fungicida combate pé de atleta	Indonésia	51	Pode interagir com medicação anticoagulante
Pimenta negra	<i>Piper nigrum</i>	Bronquite e infecções respiratórias.	Índia	67,5	Contraindicado para gestantes, crianças com menos de 2 anos e pessoas com sensibilidade cutânea. Pode irritar pele e mucosa.
Pimenta rosa	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Bactericida, fungicida, acne, cistite e candidíase	Brasil	44	Considerado seguro.
Pinheiro silvestre	<i>Pinus sylvestris</i>	Sinusite, rinite, catarro, pneumonia. Antifúngico e antibacteriano	Bulgária	43	Considerado seguro.
Pinho siberiano	<i>Abies sibirica</i>	Bronquite, pneumonia e resfriados	Rússia	40	Considerado seguro.

Óleo essencial	Nome científico	Uso de acordo com prática clínica	País de origem	Preço (R\$)	Contraindicações
Priprioca	<i>Cyperus articulatus</i>	Antisséptico em feridas e infecções	Brasil	67	Contraindicado para gestantes.
Ravintsara	<i>Cinnamomum camphora</i>	Bactericida, antifúngico, expectorante para rinite, gripe e resfriados.	Madagascar	49	Crianças de até 2 anos.
Salvia esclareaia	<i>Sálvia sclarea</i>	Acne, furúnculo, dermatites	Rússia	43	Contraindicado para gestantes.
Sândalo amyris	<i>Amyris balsamifera</i>	Possui alta atividade antimicrobiana podendo ser usado em vários tipos de infecções microbiológicas	Haiti	48	Considerado seguro.
Tea tree	<i>Melaleuca alternifolia</i>	Antifúngico potente, combate pé de atleta, onimicose, furúnculos, herpes e previne candidíase.	Austrália	38	Evite o uso em excesso. Acima de 5% de concentração, é possível que ocorra reação alérgica. Não utilize puro na pele.
Tomilho	<i>Thymus vulgaris</i>	Antibacteriano, antimicrobiano, fungicida, e micose, e candidíase. expectorante, muito utilizado em resfriados.	Espanha	34	Contraindicado para gestantes e crianças até 2 anos.
Wintergreen	<i>Gaultheria procumbens</i>	Gripe, resfriado comum, indicado para caspa, irritações, acne. Antifúngico.	China	53,8	Contraindicado para gestantes e crianças de até 7 anos. Irritante da pele. Pessoas alérgicas aos salicilatos. Uso de medicamento anticoagulante.

Fonte: Elaborada pela autora de acordo com a pesquisa realizada no portfólio Harmonie Aromaterapia, 2021.

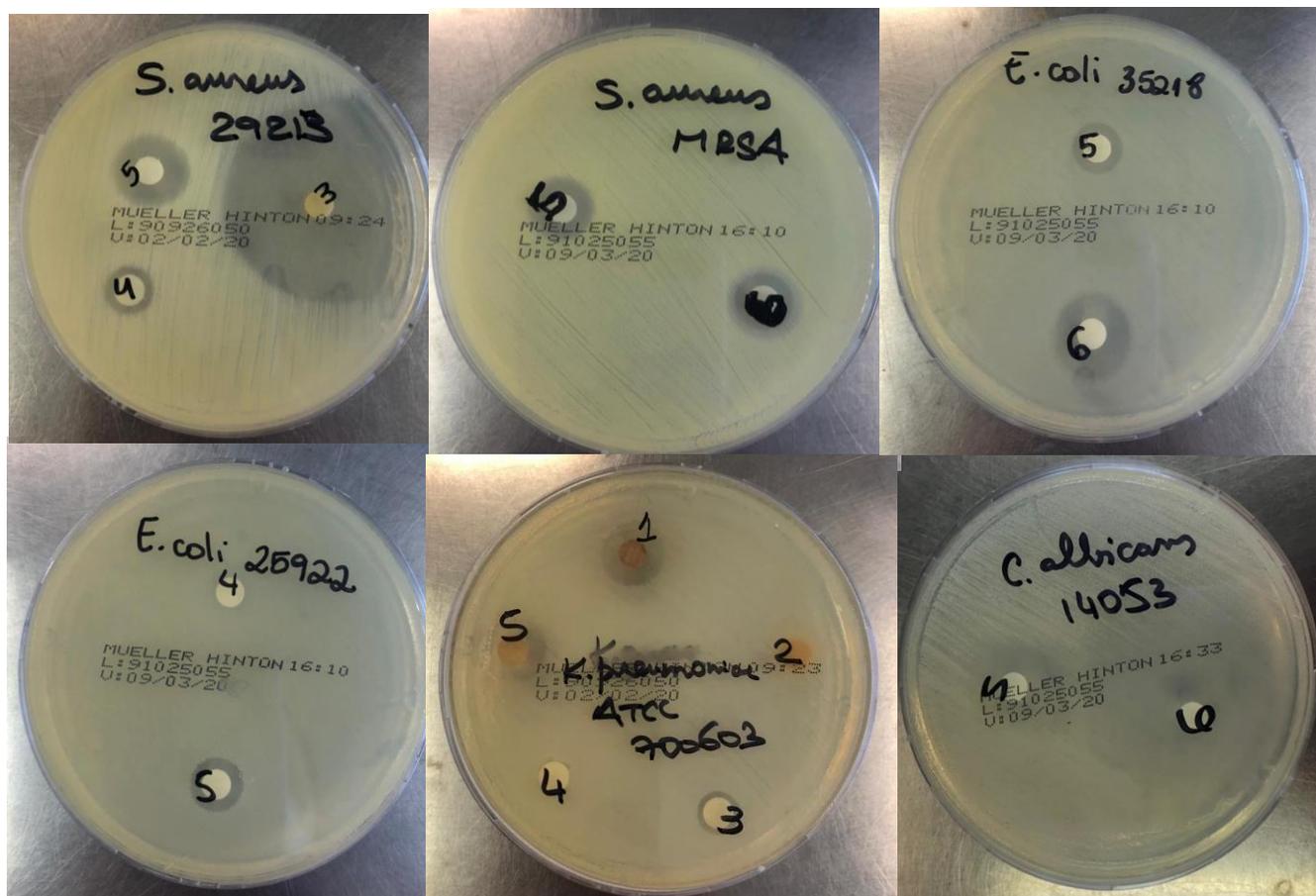
8.2 APÊNDICE B – IMAGENS DO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO: *Cymbopogon flexuosus*



Legenda: *S. aureus* ATCC 29213: 3 – Capim-limão; 4 - Salvia Esclareia; 5 - Manjeriço; *S. aureus* MRSA: 3 –Capim-limão; 4 - Salvia Esclareia; *E. coli* ATCC 352183: 3 - Capim-limão; 4 - Salvia Esclareia; *E. coli* ATCC 25922: 1 - Tomilho; 2 - Orégano; 3 – Capim-limão; *K. pneumoniae* ATCC 700603: 1 - Tomilho; 2 - Orégano; 3 - Manjeriço; 4 - Salvia Esclareia; 5 – Capim-limão; *C. albicans* ATCC 14053: 3 - Capim-limão; 4 - Salvia Esclareia.

Fonte: Acervo pessoal da autora, 2021.

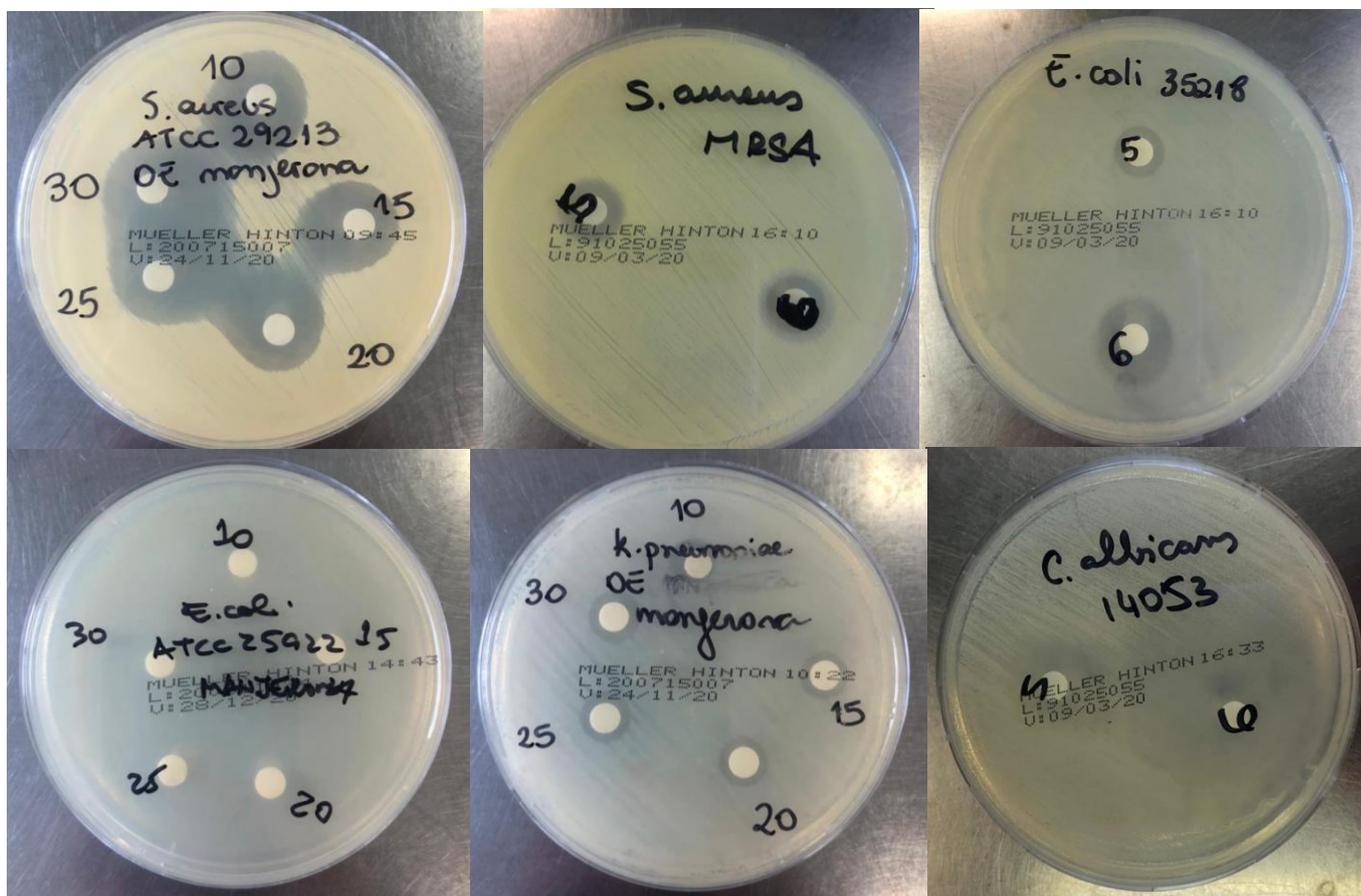
APÊNDICE C – IMAGENS DO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO: *Ocimum basilicum*



Legenda: *S. aureus* ATCC 29213: 3 – Capim-limão; 4 - Salvia Esclareia; 5 - Manjericão;
S. aureus MRSA: 5 – Manjericão; 6 - Manjerona; *E. coli* ATCC 352183: 5 – Manjericão; 6 - Manjerona;
E. coli ATCC 25922: 4 - Salvia Esclareia; 5 – Manjericão; *K. pneumoniae* ATCC 700603: 1 - Tomilho;
 2 - Orégano; 3 - Manjericão; 4 - Salvia Esclareia; 5 – Capim-limão; *C. albicans* ATCC 14053: 5 -
 Manjericão; 6 – Manjerona.

Fonte: Acervo pessoal da autora, 2021.

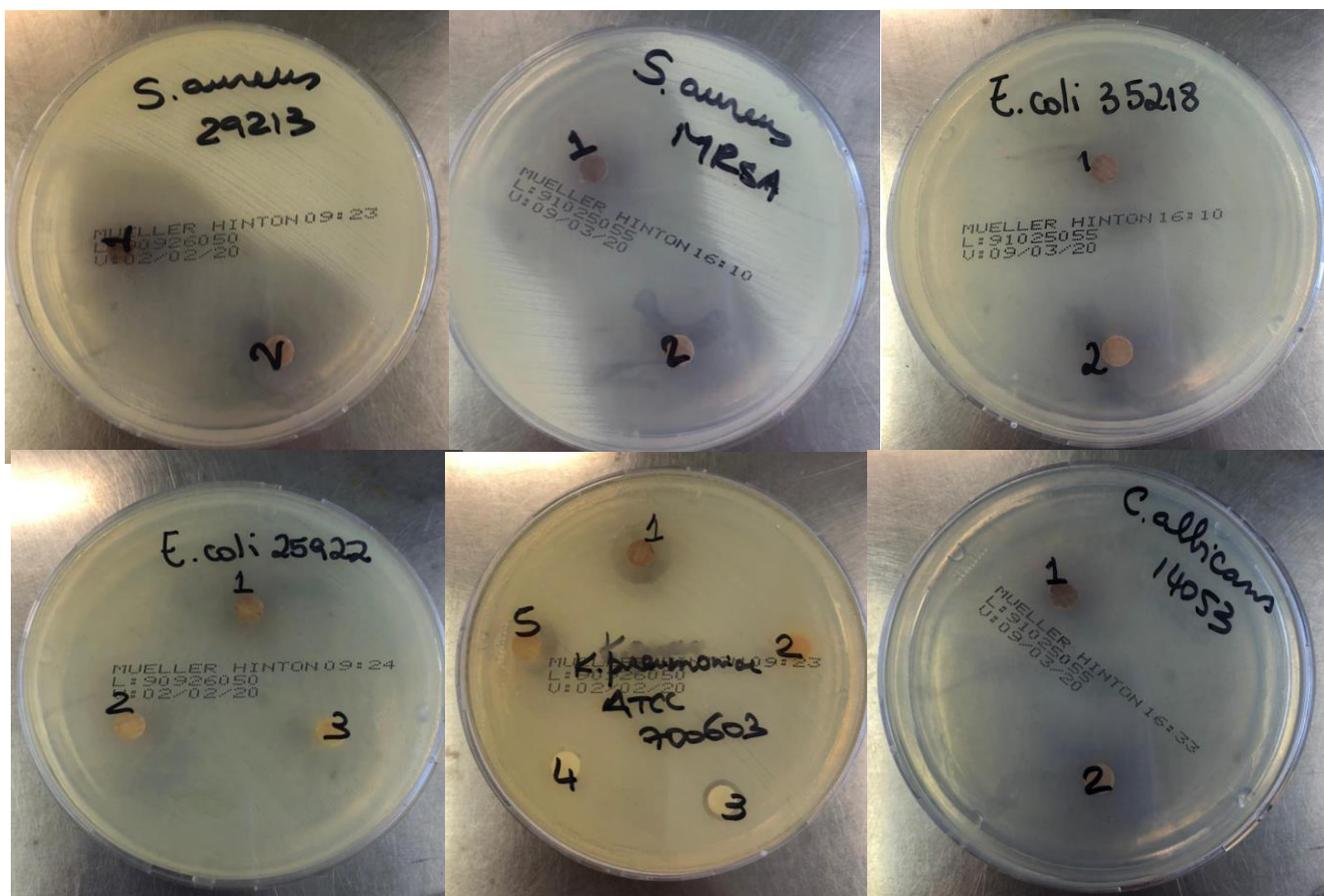
APÊNDICE D – IMAGENS DO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO: *Origanum majorana*



Legenda: *S. aureus* ATCC 29213: Apenas Manjerona; *S. aureus* MRSA: 5 - Manjericão ;6 - Manjerona; *E. coli* ATCC 352183: : 5 - Manjericão; 6 – Manjerona; *E. coli* ATCC 25922: Apenas Manjerona; *K. pneumoniae* ATCC 700603: Apenas Manjerona; 4 - Salvia Esclareia; 5 – Capim-limão; *C. albicans* ATCC 14053: 5 - Manjericão; 6 – Manjerona.

Fonte: Acervo pessoal da autora, 2021.

APÊNDICE E – IMAGENS DO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO: *Origanum vulgare*



Legenda: *S. aureus* ATCC 29213: 1 – Tomilho; 2 – Orégano; *S. aureus* MRSA: 1 – Tomilho; 2 – Orégano; *E. coli* ATCC 352183: 1 – Tomilho; 2 – Orégano; *E. coli* ATCC 25922: 1 - Tomilho; 2 - Orégano; 3 – Capim-limão; *K. pneumoniae* ATCC 700603: 1 - Tomilho; 2 - Orégano; 3 - Manjeriçã; 4 - Salvia Esclareia; 5 – Capim-limão; *C. albicans* ATCC 14053: 1 – Tomilho; 2 – Orégano

Fonte: Acervo pessoal da autora, 2021.

APÊNDICE F – IMAGENS DAS PLACAS DO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO: *Thymus vulgaris*

Vide apêndice E.

APÊNDICE G – IMAGENS DO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO:
Cymbopogon flexuosus



Legenda: Microplaca de 96 poços contendo diluição seriada do OE. Linhas: A: *E. coli* ATCC 25922;
B: *E. coli* ATCC 352183; C: *S. aureus* ATCC 29213; D: *S. aureus* MRSA; F: *K. pneumoniae* ATCC
700603.

Fonte: Acervo pessoal da autora, 2021.

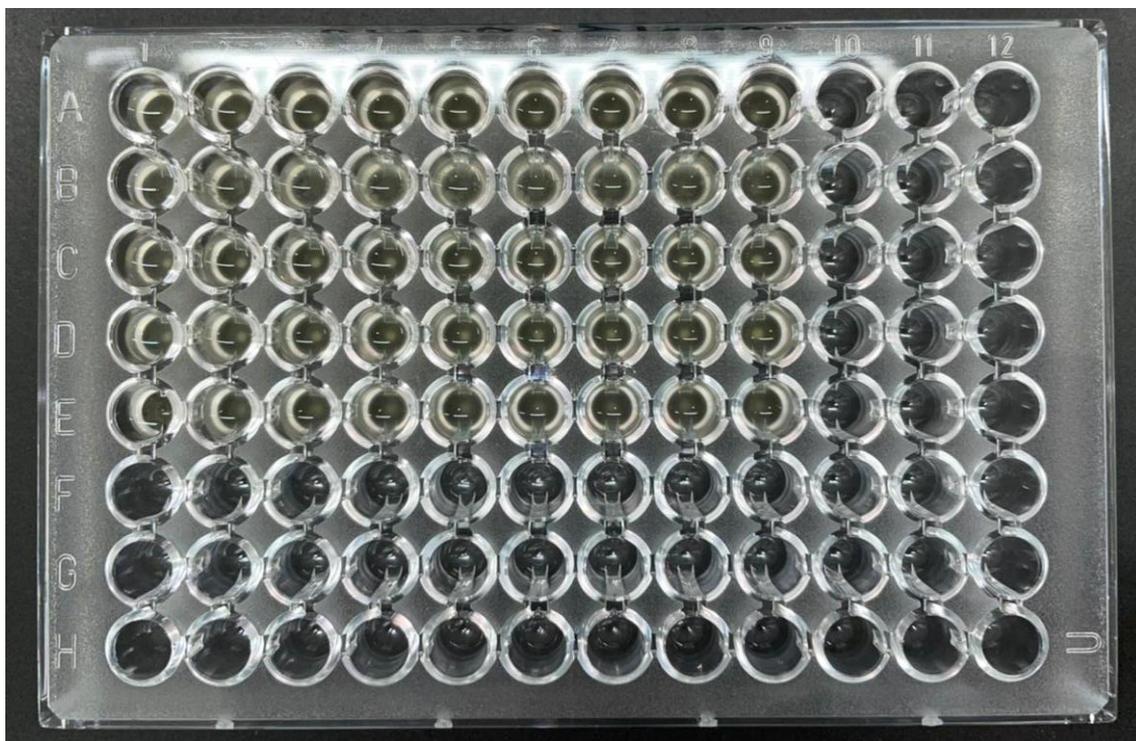
APÊNDICE H – IMAGENS DO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO: *Ocimum basilicum*



Legenda: Microplaca de 96 poços contendo diluição seriada do OE. Linhas: A: *E. coli* ATCC 25922; B: *E. coli* ATCC 352183; C: *S. aureus* ATCC 29213; D: *S. aureus* MRSA; F: *K. pneumoniae* ATCC 700603.

Fonte: Acervo pessoal da autora, 2021.

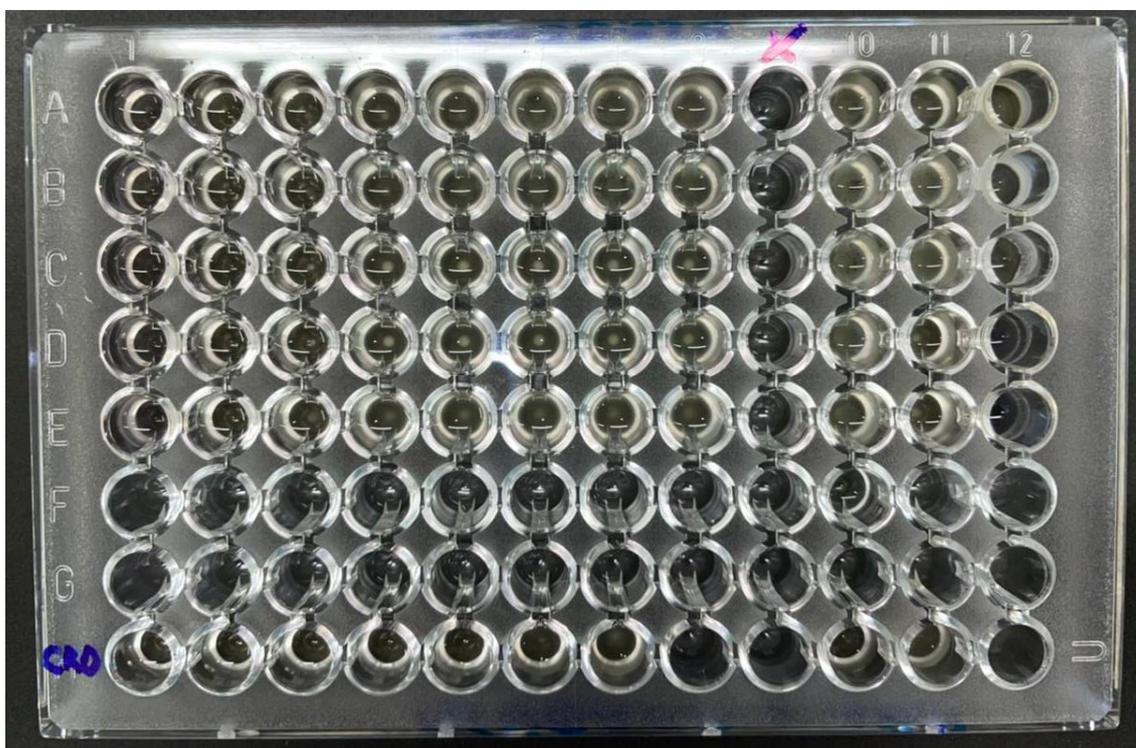
APÊNDICE I – IMAGENS DAS PLACAS DO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO: *Origanum majorana*



Legenda: Microplaca de 96 poços contendo diluição seriada do OE. Linhas: A: *E. coli* ATCC 25922; B: *E. coli* ATCC 352183; C: *S. aureus* ATCC 29213; D: *S. aureus* MRSA; F: *K. pneumoniae* ATCC 700603.

Fonte: Acervo pessoal da autora, 2021.

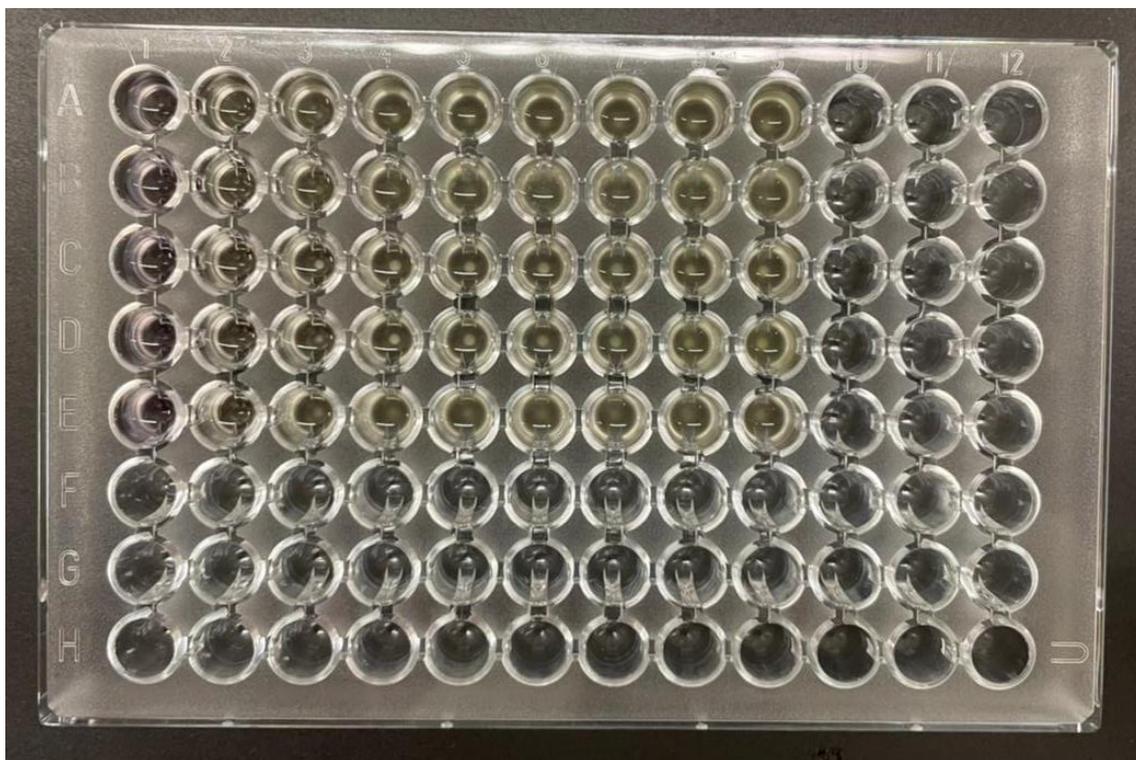
APÊNDICE J – IMAGENS DO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO: *Origanum vulgare* E CONTROLE DO MÉTODO



Legenda: Microplaca de 96 poços contendo diluição seriada do OE. Linhas: A: *E. coli* ATCC 25922; B: *E. coli* ATCC 352183; C: *S. aureus* ATCC 29213; D: *S. aureus* MRSA; F: *K. pneumoniae* ATCC 700603; H: Controle de ceftriaxona com *E. coli* ATCC 25922.

Fonte: Acervo pessoal da autora, 2021.

APÊNDICE K – IMAGENS DO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO: *Thymus vulgaris*



Legenda: Microplaca de 96 poços contendo diluição seriada do OE. Linhas: A: *E. coli* ATCC 25922;
B: *E. coli* ATCC 352183; C: *S. aureus* ATCC 29213; D: *S. aureus* MRSA; F: *K. pneumoniae* ATCC
700603:

Fonte: Acervo pessoal da autora, 2021.