

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIADERENTE
DOS ÓLEOS ESSENCIAIS
DO EUCALYPTUS CITRIODORA
E DO EUCALYPTUS GLOBULUS CONTRA
ESCHERICHIA COLI**



Daniel Fernandes Ramalho
Érica de Farias Dantas
Maria Auxiliadora da Silva Ramalho
Aleson Pereira de Sousa
Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira
Abrahão Alves de Oliveira Filho



2020

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIADERENTE
DOS ÓLEOS ESSENCIAIS
DO EUCALYPTUS CITRIODORA
E DO EUCALYPTUS GLOBULUS CONTRA
ESCHERICHIA COLI**



Daniel Fernandes Ramalho
Érica de Farias Dantas
Maria Auxiliadora da Silva Ramalho
Aleson Pereira de Sousa
Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira
Abrahão Alves de Oliveira Filho



2020

2020 by Editora e-Publicar

Copyright © Editora e-Publicar

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Editora e-Publicar

Direitos para esta edição cedidos à Editora e-Publicar pelos autores.

Editora Chefe

Patrícia Gonçalves de Freitas

Editor

Roger Goulart Mello

Diagramação

Roger Goulart Mello

Projeto gráfico e Edição de Arte

Patrícia Gonçalves de Freitas

Revisão

Os Autores

Todo o conteúdo dos artigos, dados, informações e correções são de responsabilidade exclusiva dos autores. O download e compartilhamento da obra são permitidos desde que os créditos sejam devidamente atribuídos aos autores. É vedada a realização de alterações na obra, assim como sua utilização para fins comerciais.

A Editora e-Publicar não se responsabiliza por eventuais mudanças ocorridas nos endereços convencionais ou eletrônicos citados nesta obra.

Conselho Editorial

Dr^a Cristiana Barcelos da Silva – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Dr^a Elis Regina Barbosa Angelo – Pontifícia Universidade Católica de São Paulo

Dr. Rafael Leal da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Dr. Fábio Pereira Cerdera – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Dr^a Danyelle Andrade Mota – Universidade Tiradentes

Me. Doutorando Mateus Dias Antunes – Universidade de São Paulo

Me. Doutorando Diogo Luiz Lima Augusto – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro

Me. Doutorando Francisco Oricelio da Silva Brindeiro – Universidade Estadual do Ceará

M^a Doutoranda Bianca Gabriely Ferreira Silva – Universidade Federal de Pernambuco

M^a Doutoranda Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa

Me. Doutorando Milson dos Santos Barbosa – Universidade Tiradentes

M^a Doutoranda Jucilene Oliveira de Sousa – Universidade Estadual de Campinas

M^a Doutoranda Luana Lima Guimarães – Universidade Federal do Ceará



2020

M^a Cristiane Elisa Ribas Batista – Universidade Federal de Santa Catarina
M^a Andrelize Schabo Ferreira de Assis – Universidade Federal de Rondônia
Me. Daniel Ordane da Costa Vale – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais
Me. Glaucio Martins da Silva Bandeira – Universidade Federal Fluminense
Me. Jose Henrique de Lacerda Furtado – Instituto Federal do Rio de Janeiro
M^a Luma Mirely de Souza Brandão – Universidade Tiradentes
Dr^a. Rita Rodrigues de Souza - Universidade Estadual Paulista
Dr. Helio Fernando Lobo Nogueira da Gama - Universidade Estadual De Santa Cruz
Dr. Willian Douglas Guilherme - Universidade Federal do Tocantins
Dr^a. Naiola Paiva de Miranda - Universidade Federal do Ceará
Dr^a. Dayanne Tomaz Casimiro da Silva - UFPE - Universidade Federal de Pernambuco

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

A945 Avaliação do efeito antiaderente dos óleos essenciais do Eucalyptus citriodora e do Eucalyptus globulus contra Escherichia coli [recurso eletrônico] / Daniel Fernandes Ramalho [et al.]. – Rio de Janeiro, RJ: e-Publicar, 2020.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-87207-66-7

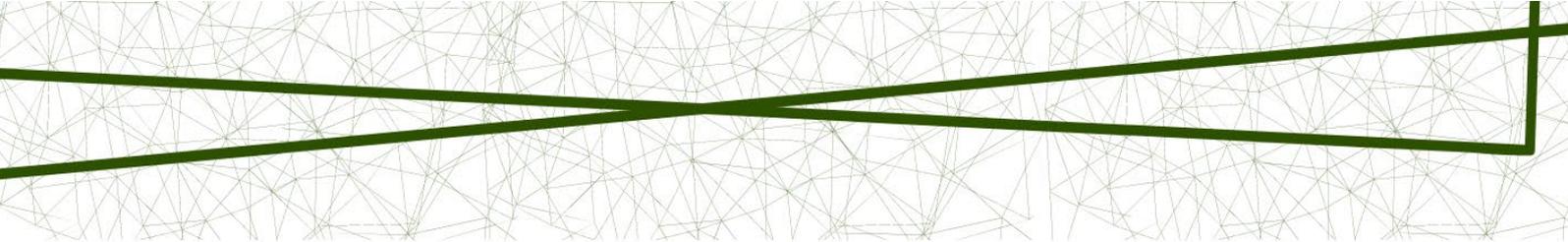
1. Fitoterapia. 2. Microbiologia. 3. Resistência bacteriana. I. Ramalho, Daniel Fernandes, 1997-. II. Dantas, Érica de Farias, 1996-. III. Ramalho, Maria Auxiliadora da Silva, 1997-. IV. Sousa, Aleson Pereira de, 1991-. V. Oliveira, Heloisa Mara Batista Fernandes de, 1988-. VI. Oliveira Filho, Abrahão Alves de, 1987-.
CDD 615.321

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Editora e-Publicar
Rio de Janeiro – RJ – Brasil
contato@editorapublicar.com.br
www.editorapublicar.com.br



2020



Apresentação

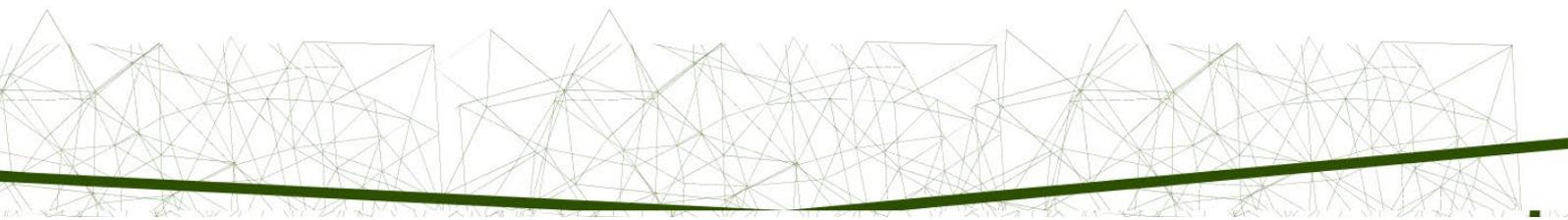
É com imensa satisfação que apresentamos a obra “Avaliação do efeito antiaderente dos óleos essenciais do *Eucalyptus citriodora* e do *Eucalyptus globulus* contra *Escherichia coli*” elaborada por **Daniel Fernandes Ramalho, Érica de Farias Dantas, Maria Auxiliadora da Silva Ramalho, Aleson Pereira de Sousa, Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira e Abrahão Alves de Oliveira Filho.**

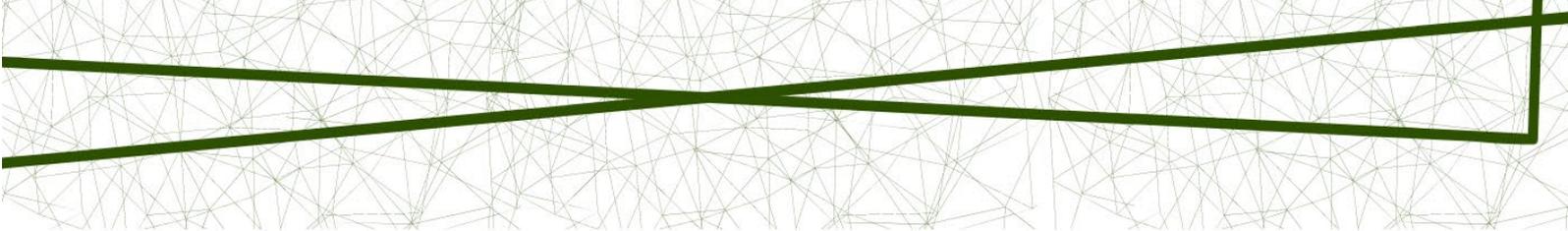
Desejamos a todos uma excelente leitura!

Patrícia Gonçalves de Freitas

Roger Goulart Mello

Editora e-Publicar



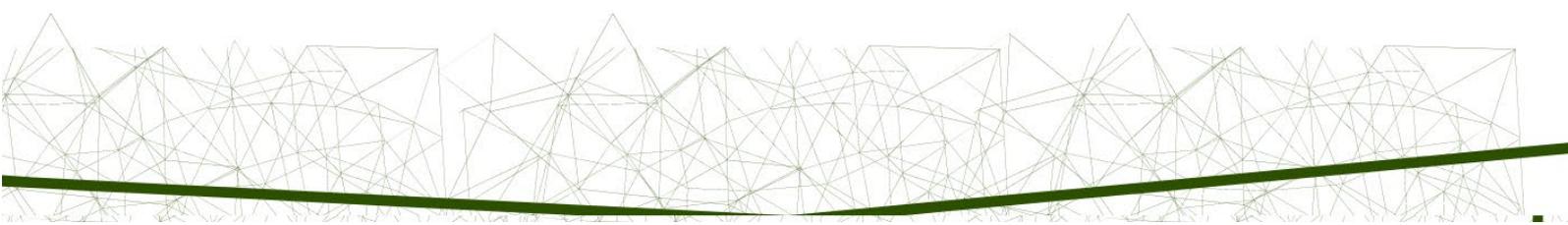


SUMÁRIO

APESENTAÇÃO.....05

**CAPÍTULO 1 - EFEITO ANTIADERENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DO
EUCALYPTUS GLOBULUS CONTRA ESCHERICHIA COLI.....08**

**CAPÍTULO 2 - EFEITO ANTIADERENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DO
EUCALYPTUS CITRIODORA CONTRA ESCHERICHIA COLI.....17**



CAPÍTULO 1

EFEITO ANTIADERENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DO *EUCALYPTUS GLOBULUS* CONTRA *ESCHERICHIA COLI*

RESUMO

A *Escherichia coli* é uma bactéria gram-negativa que vive associada a flora intestinal humana. É um microrganismo responsável por grande parte das Infecções do Trato Urinário (ITU's) em pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI's), podendo formar biofilmes em cateteres que podem ser veículos de contaminação causando doenças como as infecções urinárias. Esta bactéria hoje em dia confere bastante resistência a maioria dos antibióticos existentes por causa do uso indiscriminado destes antimicrobianos. O presente trabalho tem o objetivo de avaliar a atividade antiaderente do óleo essencial do *Eucalyptus globulus* contra cepas de *Escherichia coli*. Foi utilizado a técnica de tubos inclinados para determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) ao vidro, na presença de 5% de sacarose. Após 24 horas, foi realizada a leitura por meio da observação visual da aderência da bactéria às paredes do tubo. Observou-se que a atividade antiaderente do óleo essencial do *Eucalyptus globulus* foi bastante eficiente, apresentando inibição na concentração 1:64, em relação ao digluconato de clorexidina foi de 1:8, concentração maior em relação ao eucalipto. O *Eucalyptus globulus* demonstrou ser eficaz como agente antiaderente para o controle e prevenção da infecção por *Escherichia coli*.

Descritores: Fitoterapia; Microbiologia; Resistência bacteriana.

INTRODUÇÃO

A urina é um ambiente adequado para a proliferação bacteriana, em consequência disso, a Infecção do Trato Urinário (ITU) é uma doença muito frequente na humanidade onde na infância, geralmente ocorre com mais facilidade de contaminação devido a uma maior vulnerabilidade ao contato com germes patogênicos que venham a invadir e se multiplicar, podendo trazer graves complicações e até prejuízo funcional de órgãos que fazem parte do sistema urinário (SILVA et al., 2014). Além disso, o cateterismo vesical é uma manobra com procedimento considerado invasivo que possui um tempo prolongando de uso no paciente, costuma ser responsável por 70 à 88% dos casos de ITU em pacientes hospitalizados (MOURA et al., 2007).

O crescimento das infecções bacterianas ao longo do tempo tem levado a humanidade a um constante progresso na tecnologia em saúde, aperfeiçoamento de antimicrobianos e no avanço das diversas formas de tratamento das enfermidades, que são importantes meios para o controle destas infecções (FONTANA, 2008). A *Escherichia coli* é uma das principais bactérias responsáveis por ITU, onde por gerações era facilmente tratado por meio de um simples de antibiótico terapia. Mas com o uso indiscriminado dos antimicrobianos, várias espécies de bactérias já se encontram com capacidades de suportarem a ação destes medicamentos, uma vez que podem sofrer pressão seletiva e adquirir mecanismos de resistência (SANTOS, 2004).

A *Escherichia coli* é uma bactéria gram-negativa, na forma de bacilo, anaeróbia facultativa, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, móvel com presença de flagelo e que vive confinada ao lúmen, onde faz parte da flora intestinal humana. A partir daí, ambos obtêm benefícios mútuos. Porém, quando esta entra na corrente sanguínea, através de violação das barreiras gastrointestinais ou indivíduos imunodeprimidos, podem causar infecção (NATARO; KAPER, 1998).

Segundo um estudo feito por Duarte et al.(2002)a respeito das ITU em gestantes, foi constatado que 95,5% das cepas de *E. coli* testadas apresentaram sensibilidade ao antimicrobiano Cefuroxima. Por outro lado, antibióticos bastante utilizados contra esta bactéria, como a ampicilina, sulfa e cefalotina, mostraram baixa eficácia estando longe do ideal de combate. Diante disto, os estudos com fitoterápicos é uma importante ferramenta na busca de novas opções de tratamento das infecções.

Os óleos essenciais são compostos naturais, complexos e voláteis produzidos pelas plantas, onde fazem parte do metabolismo secundário, geralmente são extraídos de plantas aromáticas encontradas em países de clima quente localizados nas regiões mediterrâneas e tropicais(MACHADO; FERNANDES JUNIOR, 2011). Os óleos essenciais naturais extraídos industrialmente, é uma alternativa interessante para testes *in vitro*, pois trata-se de um produto eficiente e prático, facilitando no andamento dos experimentos em laboratório, uma vez que já se encontram prontos para a utilização, além disso, contêm todas as propriedades bioativas conservadas.

O *Eucalyptus globulus* é uma árvore com característica aromática, pertencente à família *Myrtaceae* (BROOKER; KLEINIG, 2004). É a principal fonte de matéria-prima para a fabricação do papel e na indústria de celulose onde é grandemente plantado em regiões subtropicais e mediterrâneas (MOTA et al., 2012; ESMAEILI; MOBAREZ; TOHIDPOUR, 2012). O *E. globulus* em suas partes da madeira, apresenta compostos fenólicos com potenciais bioativos, onde foi analisado atividades antioxidante e antimicrobiana (LUIS et al., 2014).

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho é avaliar a atividade antiaderente do óleo essencial do *Eucalyptus globulus* contra cepas de *Escherichia coli* utilizando a técnica da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA).

MATERIAL E MÉTODOS

Ensaio in vitro

Substâncias-teste

O óleo essencial do *Eucalyptus globulus* foi obtido da indústria Quinari (Pinhais – PR).

Espécies bacterianas e meio de cultura

Utilizou-se a bactéria de origem clínica *Escherichia coli* (Ec 102). A cepa foi mantida em meio Agar Mueller Hinton (AMH) conservada em temperatura de 4 °C, sendo utilizado para os ensaios repique de 24 horas em AMH incubado a 35 °C. No estudo da atividade antimicrobiana foi utilizado um inóculo bacteriano de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL padronizado de acordo com a turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000).

Determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA)

Conforme Albuquerque et al. (2010) as Concentrações Inibitórias Mínimas de Aderência (CIMA) do óleo foram determinadas na presença de sacarose a 5%, usando

concentrações correspondentes ao óleo essencial puro da espécie *Eucalyptus globulus* até a diluição 1:1024. A partir do crescimento bacteriano, a cepa de *Escherichia coli* foi cultivada em temperatura de 37°C em caldo Mueller Hinton (DIFCO, Michigan, Estados Unidos), depois foram distribuídos 0,9 mL do subcultivo em tubos de ensaio e, em seguida, adicionado 0,1 mL da solução correspondente às diluições do óleo essencial. A incubação foi feita sob temperatura de 37°C por 24 horas com tubos inclinados a 30°. A leitura foi realizada através da observação visual da aderência da bactéria às paredes do tubo, após a agitação do mesmo. O ensaio foi realizado em duplicata. O mesmo procedimento foi realizado para o controle positivo, o digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard®, Colgate-Palmolive Company, Nova York, EUA). Foi considerada a CIMA a menor concentração do agente em contato com sacarose que impediu a aderência ao tubo de vidro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Além da ITU ser comumente causada pela *E. coli*, esta bactéria pode provocar também algumas outras doenças como a septicemia, meningite, enterite e diarreia (NATARO; KAPER, 1998). No caso das infecções urinárias, a virulência de cepas de *E. coli* é por meio da fácil adesão e invasão do epitélio da bexiga do hospedeiro juntamente com a resistência a antibióticos, que são papéis fundamentais no estabelecimento das ITU's (NARCISO et al., 2010).

A procura por substâncias inéditas e bioativas em plantas, é de grande importância no combate as infecções diante da vasta biodiversidade de espécies vegetais existentes. Áreas como a botânica, farmacologia e fitoquímica juntas fornecem conhecimentos por meio do estudo das plantas medicinais, buscando pelo tratamento e cura de doenças e modificando os conceitos de que estes vegetais são apenas matéria prima, tornando-se recursos terapêuticos benéficos e eficazes para a humanidade (MACIEL et al., 2002). Cerca de 45% dos medicamentos comercializados pela indústria farmacêutica na atualidade, são provenientes de compostos fitoquímicos extraídos de plantas medicinais (CARVALHO et al., 2007).

Conforme a tabela 1, está representado a Concentração Inibitória Mínima de Aderência do óleo essencial do *Eucalyptus globulus* contra a cepa de *Escherichia coli* em comparação com o digluconato de Clorexidina 0,12%.

Tabela 1 – Concentração Inibitória Mínima de Aderência em µg/mL do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* e do digluconato de clorexidina 0,12% contra a cepa de *Escherichia coli*.

<i>Eucalyptus globulus</i>										
Concentração em µg/ml	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128		
	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
Digluconato de clorexidina										
Concentração em µg/ml	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128		
	-	-	-	-	+	+	+	+		

Legenda: (-) Sem adesão a parede do tubo (+) Com adesão a parede do tubo

Fonte: Próprio Autor (2020)

Analisando os dados observa-se que o *E. globulus* apresentou uma CIMA de 1:64, isso mostra que esta espécie vegetal possui eficiência na inibição da formação do biofilme contra as cepas de *E. coli*, apresentando resultado positivo a uma menor concentração do óleo em relação ao resultado obtido do digluconato de clorexidina 0,12% que apresentou inibição a uma maior concentração, sendo de 1:8.

As plantas podem produzir cerca de 200.000 compostos fitoquímicos provenientes do seu metabolismo secundário (SHARMA et al., 2013). Dentre esses metabólitos, encontram-se os óleos essenciais que são produzidos naturalmente pelas plantas e ricos em compostos aromáticos voláteis que fazem parte dos mecanismos de defesa (SIMÕES et al., 2010).

Um estudo realizado por Ali et al.(2015) utilizando um método de síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) através microondas encapsulando extrato aquoso de folhas de *Eucalyptus globulus* (ELE), investigaram o potencial antibacteriano e antibiofilme desta espécie vegetal contra as bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina (MSSA). Os resultados demonstraram expressiva inibição na formação de biofilme na *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Quanto a sensibilidade, a *S. aureus* se mostrou mais sensível em comparação com a *E. coli* e a *P. aeruginosa*. Já a MRSA,

apresentou maior sensibilidade que a MSSA, enquanto a *P. aeruginosa* foi mais sensível que *E. coli* ao tratamento com ELE-AgNPs.

Lima et al. (2019) avaliaram a atividade antibacteriana do óleo essencial dos frutos do *Eucalyptus globulus* contra bactérias multirresistentes causadoras de infecção hospitalar. Os resultados mostraram ações positivas deste óleo frente aos vários perfis de resistência de bactérias gram-negativas com destaque para a *Escherichia coli* 19 –Beta lactamase de espectro estendido (ESBL) e *Enterobacteraerogenes* 21 – produtora de carbapenemase (KPC). Estas bactérias citadas, são responsáveis por altas taxas de mortalidade de pessoas em ambientes hospitalares.

De acordo com o trabalho de Estanislau et al.(2001) além da composição química, analisaram também atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies botânicas do gênero *Eucalyptus* frente as bactérias *Escherichia coli* 0:158, *E. coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708. Os resultados constataram que todos os óleos essenciais testados tiveram efeito positivo na inibição da *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. No entanto, o *Eucalyptus citriodora* e o *Eucalyptus grandis* se destacaram com maior efeito na inibição contra as bactérias gram-negativas.

No estudo de Ramalho et al. (2020) onde ao verificarem a Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do *Eucalyptus globulus* frente a *Klebsiellapneumoniae* (Kp 102) e tendo também o digluconato de clorexidina como controle positivo, constatou-se que o *E. globulus* apresentou CIMA na concentração 1:8, proporção de oito vezes acima da testada neste estudo, sendo de 1:64 contra *Escherichia coli* (Ec 102). Isso mostra que o *Eucalyptus globulus* apresentou um resultado melhor e de menor CIMA contra a *E. coli* do que em relação a *K. pneumoniae*. O digluconato de clorexidina obteve CIMA na mesma concentração, sendo de 1:8 também.

A clorexidina é um antisséptico sintético muito potente e estudado. Devido sua alta eficácia, é em geral utilizada também como padrão de referência para estudos em comparação com a potência de outros agentes antimicrobianos. Pequenas concentrações desta substância são capazes de inibir o crescimento ou matar grande parte dos

microrganismos, além de ter baixíssimo poder de toxicidade em seres humanos, proporcionando uma certa segurança na utilização (HORTENSE et al., 2017).

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, o óleo essencial do *Eucalyptus globulus* teve um elevado potencial de eficácia como agente antiaderente, apresentando uma significativa vantagem em relação ao controle positivo digluconato de clorexidina 0,12%, podendo desse modo ser utilizado como método alternativo de inibição da formação do biofilme contra cepas da *E. coli*. Todavia, são necessários estudos mais aprofundados a respeito dos mecanismos de ação que venham a esclarecer e ajudar a combater a resistência microbiana.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE A. C. L., PEREIRA M. S. V., PEREIRA J. V., PEREIRA L. F., SILVA D. F., MACEDO-COSTA M. R. Efeito antiaderente do extrato da *Matricaria recutita* Linn. Sobre microorganismos do biofilme dental. **RevOdontol UNESP**, v. 39, n. 1, p. 21-5, 2010.

ALI K., AHMED B., DWIVEDI S., SAQUIB Q., AL-KHEDHAIRY A. A., MUSARRAT J. Microwave accelerated green synthesis of stable silver nanoparticles with *Eucalyptus globulus* leaf extract and their antibacterial and antibiofilm activity on clinical isolates. **PloS one**, v. 10, n. 7, p. e0131178, 2015.

BROOKER, I., KLEINIG, D. A. **Field Guide to Eucalypts: Northern Australia: Volume Three**. Bloomings Books, 2004.

CARVALHO A. C. B., NUNES D. S. G., BARATELLI T. G., SHUQAIR NSMSAQ N. E. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, v. 5, n. 11, p. 26-32, 2007.

CLEELAND R., SQUIRES E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infections. **Antibiotics in laboratory medicine**.3:739-787; 1991.

DUARTE G., MARCOLIN A. C., GONÇALVES C. V., QUINTANA S. M., BEREZOWSKI A. T., NOGUEIRA A. A., CUNHA S. P. D. Infecção urinária na gravidez: análise dos métodos para diagnóstico e do tratamento. **RBGO**. 24(7):471-477; 2002.

ESMAEILI D., MOBAREZ A. M., TOHIDPOUR A. Anti-helicobacter pylori activities of shoya powder and essential oils of thymus vulgaris and eucalyptus globulus. **The open microbiology journal**, v. 6, p. 65, 2012.

ESTANISLAU A. A., BARROS F. A. S., PEÑA A. P., SANTOS S. C., FERRI P. H., PAULA J. R. D. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 95-100, 2001.

FONTANA R. T. As micobactérias de crescimento rápido e a infecção hospitalar: um problema de saúde pública. **Revista brasileira de enfermagem**, v. 61, n. 3, p. 371-376, 2008.

HADACEK F., GREGER H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v. 11, n. 3, p. 137-147, 2000.

HORTENSE S. R., SILVA C., CARVALHO F. S., SILVA R. P. R., BASTOS J. R. M., BASTOS R. S. Uso da clorexidina como agente preventivo e terapêutico na odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 22, n. 2, p. 178-184, 2017.

LIMA C. V. R., DAS NEVES F. J. M., MAIOR L. P. S., PIRES L. L. S., ROCHA T. J. M., DOS SANTOS A. F. Ação antibacteriana do óleo essencial das folhas de aroeira frente a patógenos multirresistentes. **Diversitas Journal**, v. 4, n. 1, p. 242-252, 2019.

LUÍS Â., NEIVA D., PEREIRA H., GOMINHO J., DOMINGUES F., DUARTE A. Stumps of *Eucalyptus globulus* as a source of antioxidant and antimicrobial polyphenols. **Molecules**, v. 19, n. 10, p. 16428-16446, 2014.

MACHADO B. F. M. T., FERNANDES JÚNIOR A. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos acadêmicos**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MACIEL M. A. M., PINTO A. C., VEIGA J. V., GRYNBERG, N. F., ECHEVARRIA A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MOTA I., PINTO P. C. R., NOVO C., SOUSA G., GUERREIRO O., GUERRA A. R., DURTE M. F., RODRIGUES A. E. Extraction of polyphenolic compounds from *Eucalyptus globulus* bark: process optimization and screening for biological activity. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 51, n. 20, p. 6991-7000, 2012.

MOURA M. E. B., CAMPELO S. M. A., BRITO F. C. P., BATISTA O. M. A., ARAÚJO, T. M. E., SILVA OLIVEIRA A. D. Infecção hospitalar: estudo de prevalência em um hospital público y de enseñanza. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 60, n. 4, p. 416-421, 2007.

NARCISO A., LITO L., CRISTINO J. M., DUARTE A. *Escherichia coli* uropatogénica: resistência aos antibióticos versus factores de virulência. **Acta Urol**, v. 27, n. 2, p. 11-20, 2010.

NATARO J. P., KAPER J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical microbiology reviews**, v. 11, n. 1, p. 142-201, 1998.

RAMALHO S. M. A., SANTOS B., RAMALHO D. F., CUNHA S. M. D., ANJOS R. M., OLIVEIRA H. M. B. F., SOUSA A. P., OLIVEIRA FILHO A. A. Antiadherent activity of essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus citriodora* against *Klebsiella pneumoniae* strains. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. 406974245, 2020.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto-Enfermagem**, v. 13, n. SPE, p. 64-70, 2004.

SHARMA P. K., SANGWAN N. S., BOSE S. K., SANGWAN R. S. Biochemical characteristics of a novel vegetative geraniolacetyl transferase from a monoterpeneoilgrass (*Palmarosa*, *Cymbopogon martinii* var. *Motia*) leaf. **Plant science**, v. 203, p. 63-73, 2013.

SILVA J. M. P., VASCONCELOS M. M., DIAS C. D. S., VASCONCELOS M. A., MENDONÇA A. C., FROES B., OLIVEIRA E. A. Aspectos atuais no diagnóstico e abordagem da infecção do trato urinário. **Rev Med Minas Gerais**, v. 24, n. 2, p. 20-30, 2014.

SIMÕES C. M. O., SCHENKEL E. P., GOSMANN G., MELLO J. C. P., MENTZ L. A., PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2010.

CAPÍTULO 2

EFEITO ANTIADERENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DO *EUCALYPTUS CITRIODORA* CONTRA *ESCHERICHIA COLI*

RESUMO

O presente trabalho tem o objetivo de avaliar a atividade antiaderente do óleo essencial do *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Escherichia coli*. A *Escherichia coli* é uma bactéria gram-negativa que vive associada a flora intestinal humana. É um microrganismo responsável por grande parte das Infecções do Trato Urinário (ITU's) em pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI's), podendo formar biofilmes em cateteres que podem ser veículos de contaminação causando doenças como as infecções urinárias. Esta bactéria hoje em dia confere bastante resistência a maioria dos antibióticos existentes por causa do uso indiscriminado destes antimicrobianos. Foi utilizado a técnica de tubos inclinados para determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) ao vidro, na presença de 5% de sacarose. Após 24 horas, foi realizada a leitura por meio da observação visual da aderência da bactéria às paredes do tubo. Observou-se que a atividade antiaderente do óleo essencial do *Eucalyptus citriodora* foi bastante eficiente, apresentando inibição na concentração 1:64, em relação odigluconato de clorexidina foi de 1:8, concentração maior em relação ao eucalipto. O *Eucalyptus citriodora* demonstrou ser eficaz como agente antiaderente para o controle e prevenção da infecção por *Escherichia coli*.

Descritores: Fitoterapia; Microbiologia; Resistência bacteriana.

INTRODUÇÃO

A Infecção do Trato Urinário (ITU) está entre as mais comuns na humanidade, perdendo apenas para as infecções respiratórias. A ITU é caracterizado pela inflamação do urotélio, geralmente, devido a presença de bactérias e leucócitos na urina. (MAZILI; CARVALHO; ALMEIDA, 2011). Diante disto, grande parte destas infecções são por meio de procedimentos invasivos como o cateterismo vesical, que costuma ser responsável por 70 à 88% dos casos de ITU em pacientes hospitalizados. (MOURA et al., 2007).

A resistência bacteriana é um problema grave em termos de saúde pública, pois intensifica as infecções hospitalares e compromete o orçamento dos sistemas de saúde pública e privada, tudo isso por causa do uso indiscriminado dos antimicrobianos, acelerando o processo natural de resistência das bactérias aos antibióticos. (COSTA; SILVA, 2017)

A *Escherichia coli* é uma bactéria gram-negativa derivada principalmente da flora intestinal. Os casos de infecção urinária por esta bactéria adquiridos fora do ambiente hospitalar, são cerca de 85% e 50% dos casos, provenientes das infecções hospitalares. (MAZILI; CARVALHO; ALMEIDA, 2011).

Segundo o estudo de Rocha e Resende (2017), ao analisarem o perfil de resistência da bactéria *Escherichia coli* a antibióticos em infecções do trato urinário, concluíram que os antibióticos com ótima sensibilidade para esta bactéria foram: amicacina 98,2% e ceftriaxona 97,8%. Ainda neste estudo, antibióticos como a amoxicilina associada ao ácido clavulânico e a gentamicina, também apresentaram uma boa sensibilidade contra a *E. coli*, 93,9% e 92,9% respectivamente. Diante destas opções de antibióticos sintéticos existentes, os estudos com fitoterápicos é uma importante ferramenta na busca de novas alternativas para tratamento das infecções.

Os óleos essenciais são complexos naturais e voláteis produzidos pelo metabolismo secundário das plantas, geralmente são extraídos de vegetais aromáticos encontradas em países de clima quente localizados nas regiões mediterrâneas e tropicais. (MACHADO; FERNANDES, 2011).

O *Eucalyptus citriodora* (*Myrtaceae*), é uma árvore de grande porte, dona de um crescimento acelerado, com casca de textura lisa, cor branca e aroma semelhante ao de limão. O *E. citriodora*, é amplamente cultivado para extração de óleo essencial por ser rico em citronelal, apresentando várias propriedades bioativas, além de ser muito utilizado na indústria de perfumaria. (BATISH et al., 2006).

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho é avaliar a atividade antiaderente do óleo essencial do *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Escherichia coli* utilizando a técnica da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA).

MATERIAIS E MÉTODOS

Ensaio *in vitro*

Substâncias-teste

O óleo essencial do *Eucalyptus citriodora* foi obtido da indústria Quinari (Pinhais – PR).

Espécies bacterianas e meio de cultura

Utilizou-se a bactéria de origem clínica *Escherichia coli* (Ec 102). A cepa foi mantida em meio Agar Mueller Hinton (AMH) a temperatura de 4 °C, sendo utilizado para os ensaios repique de 24 horas em AMH incubado a 35 °C. No estudo da atividade antimicrobiana foi utilizado um inóculo bacteriano de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL padronizado de acordo com a escala de McFarland com turbidez do tubo 0,5 (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000).

Determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA)

As Concentrações Inibitórias Mínimas de Aderência (CIMA) do óleo foram determinadas na presença de sacarose a 5%, de acordo com Albuquerque et al. (2010), usando-se concentrações correspondentes ao óleo essencial puro da espécie *Eucalyptus citriodora* até a diluição 1:1024. A partir do crescimento bacteriano, a cepa de *Escherichia coli* foi cultivada sob temperatura de 37°C em caldo Mueller Hinton (DIFCO, Michigan, Estados Unidos), depois foram distribuídos 0,9 mL do subcultivo em tubos de ensaio e, em seguida, adicionado 0,1 mL da solução correspondente às diluições do óleo essencial. Os tubos foram inclinados a 30° e a incubação feita a temperatura de 37°C por 24 horas. A leitura dos resultados foi realizada através da observação visual da aderência da bactéria às paredes do tubo, após a agitação do mesmo. O ensaio foi realizado em duplicata. O mesmo procedimento foi realizado para o controle positivo, o digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard®, Colgate-Palmolive Company, Nova York, EUA). Foi considerada a CIMA a menor concentração do agente em contato com sacarose que impediu a aderência ao tubo de vidro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 está representado a Concentração Inibitória Mínima de Aderência do óleo essencial do *Eucalyptus citriodora* contra a cepa de *Escherichia coli* em comparação com o digluconato de clorexidina 0,12%.

Tabela 1 – Concentração Inibitória Mínima de Aderência em µg/ml do óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e do digluconato de clorexidina 0,12% contra a cepa de *Escherichia coli*.

<i>Eucalyptus citriodora</i>								
Concentração em µg/ml	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
	-	-	-	-	-	-	-	+

Digluconato de clorexidina 0,12%								
Concentração em µg/ml	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
	-	-	-	-	+	+	+	+

Legenda: (-) Sem adesão a parede do tubo (+) Com adesão a parede do tubo

Fonte: Próprio Autor (2020)

Analisando os dados observa-se que o *E. citriodora* apresentou uma CIMA de 1:64, isso mostra que esta espécie possui ótima eficiência na inibição da formação do biofilme contra as cepas de *E. coli*, apresentando resultado positivo a uma menor concentração do óleo em relação aos resultados obtidos do digluconato de clorexidina 0,12% que apresentou inibição a uma maior concentração, sendo de 1:8.

O biofilme é um aglomerado de microrganismos que apresentam um complexo polimérico gelatinoso, apoiada a uma superfície sólida, quase sempre inserida em meio líquido, constituída principalmente por microrganismos, pelos compostos poliméricos extracelulares que estes produzem e por água. (CHAVES, 2004). Dessa forma, diferentemente de se combater a bactéria isolada e livre deste complexo representado pelo biofilme, torna esse estudo mais desafiador, pois o biofilme é uma verdadeira barreira de proteção dos microrganismos, contribuindo para a resistência bacteriana.

Diante da vasta biodiversidade vegetal existente, a procura por substâncias inéditas e bioativas em plantas é importante na produção de novos antibióticos para o controle das

infecções bacterianas. Segundo Carvalho et al. (2007), cerca de 45% dos medicamentos comercializados pela indústria farmacêutica, são provenientes de compostos fitoquímicos extraídos de plantas medicinais.

De acordo com Pereira et al. (2008), a utilização de metabólitos secundários de plantas além de apresentar impactos reduzidos ao meio ambiente, possui comprovada ação biológica sobre microrganismos ao analisarem a caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

O gênero vegetal *Eucalyptus* se destaca pelo seu alto valor do ponto de vista medicinal e econômico. (FRANCO et al., 2005). Dessa forma, reforça-se a ideia deste gênero possuir espécies com contribuições significativas na ação antimicrobiana e antibiofilme para determinadas espécies bacterianas existentes. De acordo com Estanislau et al. (2001), ao analisarem a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus*, entre elas o *Eucalyptus citriodora*, constataram que esta espécie vegetal apresentou potencial inibitório contra a *Escherichia coli* 0:158.

Correa et al. (2019), avaliaram a atividade antimicrobiana e antibiofilme do óleo essencial de folhas secas do *Eucalyptus staigeriana* contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e também no combate a bactérias resistentes e multiresistentes de *Enterococcus faecalis*, e constataram que na atividade antimicrobiana esta espécie vegetal foi eficiente no combate apenas das cepas gram-positivas. Quando comparado com a cepa de referência de *Enterococcus faecalis*, o óleo de *E. staigeriana* mostrou uma Concentração Inibitória Mínima reduzida para as cepas resistentes e multiresistentes desta bactéria, sendo de 3,12 para 6,25%. Quanto a capacidade de inibição do biofilme, o óleo de *E. staigeriana* apresentou potencial, porém, quando houve a pré-formação do biofilme, obteve-se pouco ou nenhum êxito de inibição.

No estudo de Ramalho et al. (2020) onde ao verificarem a Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do *Eucalyptus citriodora* frente a *Klebsiella pneumoniae* (Kp 102) e tendo também o digluconato de clorexidina como controle positivo, constatou-se que o *E. citriodora* não apresentou CIMA em nenhuma concentração. Resultado este, divergente contra *Escherichia coli* (Ec 102), onde o *Eucalyptus citriodora* apresentou

CIMA na concentração 1:64. O digluconato de clorexidina obteve CIMA na mesma concentração, sendo de 1:8 também.

A clorexidina é um antisséptico sintético e de alta eficácia, é em geral utilizada também como padrão de referência para estudos em comparação com a potência de outros agentes antimicrobianos. Pequenas concentrações desta substância são capazes de inibir o crescimento ou matar grande parte dos microrganismos, além de ter baixíssimo poder de toxicidade em seres humanos, proporcionando segurança na utilização. (HORTENSE et al., 2010).

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, o óleo essencial do *Eucalyptus citriodora* teve um elevado potencial de eficácia como agente antiaderente, apresentando uma significativa vantagem em relação ao controle positivo digluconato de clorexidina 0,12%, podendo desse modo ser utilizado como método alternativo de inibição da formação do biofilme contra cepas da *E. coli*. Todavia, são necessários estudos mais aprofundados a respeito dos mecanismos de ação que venham a esclarecer e ajudar a combater a resistência microbiana.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE A. C. L., PEREIRA M. S. V., PEREIRA J. V., PEREIRA L. F., SILVA D. F., MACEDO-COSTA M. R. Efeito antiaderente do extrato da *Matricaria recutita* Linn. Sobre microorganismos do biofilme dental. **Rev Odontol UNESP**, v. 39, n. 1, p. 21-5, 2010.

BATISH, D. R., SINGH H. P., SETIA, N., KAUR, S., KOHLI, R. K. Chemical composition and inhibitory activity of essential oil from decaying leaves of *Eucalyptus citriodora*. **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 61, n. 1-2, p. 52-56, 2006.

CARVALHO A. C. B., NUNES D. S. G., BARATELLI T. G., SHUQAIR NSMSAQ N. E. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, v. 5, n. 11, p. 26-32, 2007.

CHAVES, L. C. D. **Estudo da cinética de formação de biofilmes em superfícies em contacto com água potável**. 2004. Tese de Doutorado. Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Braga, Portugal.

CLEELAND R., SQUIRES E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infections. **Antibiotics in laboratory medicine**. 3:739-787; 1991.

CORREA, M. S., SCHWAMBACH, J., MANN, M. B., FRAZZON, J., FRAZZON, A. P. G. Antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil from dried leaves of *Eucalyptus staigeriana*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, 2019.

COSTA, A. L. P., SILVA JUNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

ESTANISLAU A. A., BARROS F. A. S., PEÑA A. P., SANTOS S. C., FERRI P. H., PAULA J. R. D. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 95-100, 2001.

FRANCO, J., NAKASHIMA, T., FRANCO, L., BOLLER, C. Composição química e atividade antimicrobiana in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus cinerea* F. Mull. ex Benth., Myrtaceae, extraído em diferentes intervalos de tempo. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 191-194, 2005.

HADACEK F., GREGER H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v. 11, n. 3, p. 137-147, 2000.

HORTENSE S. R., SILVA C., CARVALHO F. S., SILVA R. P. R., BASTOS J. R. M., BASTOS R. S. Uso da clorexidina como agente preventivo e terapêutico na odontologia. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 22, n. 2, p. 178-184, 2017.

MACHADO B. F. M. T., FERNANDES JÚNIOR A. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos acadêmicos**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MAZILI, P. M., CARVALHO JÚNIOR, A. P., ALMEIDA, F. G. Infecção do trato urinário. **Rev BrasMed**, v. 68, p. 74-81, 2011.

MOURA M. E. B., CAMPELO S. M. A., BRITO F. C. P., BATISTA O. M. A., ARAÚJO, T. M. E., SILVA OLIVEIRA A. D. Infección hospitalaria: estudio de prevalencia en un hospital público y de enseñanza. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 60, n. 4, p. 416-421, 2007.

PEREIRA, A. A., CARDOSO, M. G., ABREU, L. R., MORAIS, A. R., GUIMARÃES, L. G. L., SALGADO, A. P. S. P. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 887-893, 2008.

RAMALHO S. M. A., SANTOS B., RAMALHO D. F., CUNHA S. M. D., ANJOS R. M., OLIVEIRA H. M. B. F., SOUSA A. P., OLIVEIRA FILHO A. A. Antiadherent activity of essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus citriodora* against *Klebsiella pneumoniae* strains. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. 406974245, 2020.



ROCHA, T. B., RESENDE, F. A. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 887-893, 2008.

www.editorapublicar.com.br
contato@editorapublicar.com.br
@epublicar
facebook.com.br/epublicar

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIADERENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DO EUCALYPTUS CITRIODORA E DO EUCALYPTUS GLOBULUSCONTRA ESCHERICHIA COLI

Daniel Fernandes Ramalho
Érica de Farias Dantas
Maria Auxiliadora da Silva Ramalho
Aleson Pereira de Sousa
Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira
Abrahão Alves de Oliveira Filho



2020



www.editorapublicar.com.br
contato@editorapublicar.com.br
@epublicar
facebook.com.br/epublicar

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIADERENTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DO EUCALYPTUS CITRIODORA E DO EUCALYPTUS GLOBULUS CONTRA ESCHERICHIA COLI

Daniel Fernandes Ramalho
Érica de Farias Dantas
Maria Auxiliadora da Silva Ramalho
Aleson Pereira de Sousa
Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira
Abrahão Alves de Oliveira Filho



2020

