

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Revisão Bibliográfica sobre a atividade antimicrobiana *in vitro* e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato de *Melaleuca alternifolia* e de *Zingiber officinale* frente as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*

Lara Alves Cardoso

Prof.^a Dr.^a Karinne Spirandelli Carvalho Naves

Uberlândia-MG

Agosto, 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Revisão Bibliográfica sobre a atividade antimicrobiana *in vitro* e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato de *Melaleuca alternifolia* e de *Zingiber officinale* frente as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*

Lara Alves Cardoso

Prof.^a Dr.^a Karinne Spirandelli Carvalho Naves

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Biotecnologia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia

Uberlândia-MG

Agosto, 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Revisão Bibliográfica sobre a atividade antimicrobiana *in vitro* e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato de *Melaleuca alternifolia* e de *Zingiber officinale* frente as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*

Lara Alves Cardoso

Prof.^a Dr.^a Karinne Spirandelli Carvalho Naves
Instituto de Ciência Biomédicas (ICBIM)

Homologado pela coordenação do Curso
de Biotecnologia em __/__/__

Nilson Nicolau Júnior

Uberlândia-MG
Agosto, 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Revisão Bibliográfica sobre a atividade antimicrobiana *in vitro* e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato de *Melaleuca alternifolia* e de *Zingiber officinale* frente as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*.

Lara Alves Cardoso

Aprovado pela Banca Examinadora em: // Nota: _____

Nome e assinatura do Presidente da Banca Examinadora.

Uberlândia, 20 de Agosto, 2022

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus e aos meus orixás por terem me dado forças e discernimento para chegar até aqui. Aos meus pais Elisabeth e Waudigailen por sempre terem me dado apoio e amor incondicional ao longo de minha caminhada. A minha irmã Laura por ter aguentado todas as reclamações diárias e por toda ajuda prestada durante esses anos. Aos meus amigos Rener, Warley, Pedro e Tayná por terem feito minha graduação um pouco mais doce e feliz.

DEDICATÓRIA

Dedico essa monografia aos meus pais e minha irmã Laura, pelo exemplo de honestidade, força e coragem. Por terem me ensinado os caminhos da justiça e terem sido minha fonte de inspiração. Aos meus amigos por toda força e compreensão.

Lista de Figuras

Figura 1. Representação esquemática do método disco-difusão.....	9
Figura 2. Representação esquemática de micro diluição em caldo.....	10
Figura 3. Representação química dos componentes da Melaleuca.....	17

RESUMO

Os óleos essenciais de plantas medicinais, vêm sendo utilizados como alternativas nos tratamentos das doenças infecciosas causadas pelas cepas de *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*. A Melaleuca é uma das plantas mais utilizadas para fins medicinais, e seu óleo extraído tem sido um dos mais utilizados mundialmente no tratamento para acne, infecções entre outros. O óleo de gengibre vem sendo utilizado como potente anti-inflamatório, antimicrobiano. A resistência dos microrganismos aos antimicrobianos vem sendo um grande problema para humanidade tornando os estudos dos óleos essenciais de extrema importância para novos fármacos em potencial. Neste trabalho foi realizada uma revisão de literatura tendo como fontes de pesquisa artigos em bases de dados como Pub Med, Google Scholar, Science e Nature, com o objetivo de avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) dos óleos essenciais de Melaleuca e de Gengibre sobre as cepas de *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*. Foi reportado que os óleos essenciais de Melaleuca e Gengibre foram eficazes na inibição destes microrganismos. A *Candida albicans* se mostrou mais susceptível ao óleo de gengibre, entretanto, o óleo de Melaleuca mostrou melhor atividade sobre a cepa de *Escherichia coli*. Estes resultados apresentam grande potencial para o uso dos óleos essenciais como produtos farmacêuticos ativos contra estes três microrganismos futuramente, tendo em vista novos estudos para melhores resultados.

Palavras chaves: Óleos essenciais, Melaleuca, Gengibre, Resistência Antimicrobiana

ABSTRACT

Essential oils from medicinal plants have been used as alternatives in the treatment of infectious diseases caused by strains of *Escherichia coli*, *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. Melaleuca is one of the most used plants for medicinal purposes, and its extracted oil has been one of the most used worldwide in the treatment of acnes, infections, among others. Ginger oil has been used as a potent anti-inflammatory, antimicrobial. The resistance of microorganisms to antimicrobials has been a major problem for humanity and has made the studies of essential oils extremely important for potential new drugs. In this work, a literature review was carried out using articles in databases such as Pub Med, Google Scholar, Science and Nature as sources of research, with the objective of evaluating and determining the minimum inhibitory concentration (MIC) of essential oils of Melaleuca and Ginger on *Escherichia coli*, *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* strains. Melaleuca and Ginger essential oils were reported to be effective in inhibiting the microorganisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Candida albicans* was more susceptible to ginger oil, however, Melaleuca oil showed better activity against the *Escherichia coli* strain. These results show great potential for the use of essential oils as active pharmaceutical products against these three microorganisms.

Keywords: Essential Oils, Melaleuca, Ginger, Antimicrobial Resistance

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Melaleuca alternifolia</i> E <i>Zingiber officinale</i>	3
1.2. CARACTERÍSTICAS E MECANISMOS DE AÇÃO DOS TERPENOS	5
1.3. ELEMENTOS RELACIONADOS A RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DOS PATÓGENOS	5
1.4. MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS	7
2. JUSTIFICATIVA	11
3. OBJETIVOS	11
4. METODOLOGIA	11
5. RESULTADOS	12
6. CONCLUSÃO	19
7. REFERÊNCIAS	20

1. INTRODUÇÃO

Segundo FURTADO et al., (2019) antimicrobianos são fármacos de origem natural, sintética ou semissintética com a finalidade de impedir ou inibir o crescimento de patógenos e destruí-los. Sua utilização clínica modificou o curso natural, melhorando o prognóstico das doenças infecciosas, que são combatidas com a utilização desses medicamentos. Entretanto, um dos problemas mundiais é uso indiscriminado desses medicamentos, o que favorece a seleção de cepas resistentes, que podem se propagar facilmente, contribuindo com o aumento da mortalidade, morbidade, prolongamento no tempo de internação e elevação nos custos do tratamento.

A resistência a antimicrobianos, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), constitui-se como um dos problemas mais graves de saúde pública, tanto em países desenvolvidos como em países emergentes. A resistência ocorre quando há mutações genéticas ou outros mecanismos de variabilidade que promovem a recombinação de genes onde atua a seleção natural (DE ANDRADE et al.,2015).

Dentre os diversos microrganismos que apresentam resistência antimicrobiana, três estão entre os mais resistentes e devem receber atenção quanto à procura de novas terapias:

Os micro-organismos do gênero *Candida* são encontrados na microbiota da mucosa reprodutiva e gastrointestinal, vivendo de forma simbiote, em cerca de 50-70% dos indivíduos saudáveis. Este gênero é formado por micro-organismos oportunista, que acometem, principalmente, pacientes imunodeprimidos, como também em tratamento com antimicrobianos de amplo espectro. Estas condições tornam esses micro-organismos importantes agentes causadores de infecção, como a Candidíase, que podem ser superficiais ou invasivas (PAPPAS et.al, 2018). *Candida albicans* é um fungo dimórfico (FRANK et al., 1988), conhecido por causar infecções nas mucosas, podendo também causar infecções na corrente sanguínea em pacientes imunossuprimidos, disseminando em órgãos internos (SUDBERY, 2011). Esses microrganismos podem ser isolados na boca, no trato gastrointestinal, orofaringe, vagina e pele de indivíduos saudáveis. A candidíase é comum em 75% das mulheres pelo menos uma vez na vida, algumas são recorrentes, em episódios crônicos. Atualmente, trata-se com nistatina, fluconazol e anfotericina B por via oral (GOMPERITZ, 2015).

A *Escherichia coli* é uma bactéria, Gram-negativa, anaeróbica facultativa e um dos microrganismos importantes na etiologia de infecções hospitalares; em muitos países é o

principal agente de infecções intestinais e urinárias. São isoladas a partir do intestino grosso humano, sendo, assim, inofensivas à nossa saúde (MARTINEZ et al., 2011). Os medicamentos utilizados no tratamento das infecções por *Escherichia coli* são gentamicina, ciprofloxacino, cefalotina, nitrofurantoína.

No grupo das bactérias Gram-positivas a *Staphylococcus aureus* possuem um destaque pelo envolvimento na etiologia de uma ampla diversidade de manifestações clínicas. As infecções causadas por esse patógeno podem ser brandas como ocorre com as infecções de pele e infecções urinárias ou severas, como: pneumonia, sepse e osteomielite (TRACEY et al. 2018). Atualmente o tratamento atualmente é feito com meticilina/oxacilina, porém há um grande desafio devido à emergência de cepas de MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) expressando multirresistência.

A grande preocupação está relacionada, principalmente, com os isolados resistentes à meticilina (MRSA), que, tradicionalmente, estavam limitados aos hospitais. Nos últimos anos, infecções causadas por MRSA associadas ou adquiridas na comunidade (CA-MRSA) têm sido relatadas com frequência crescente em todo o mundo. Algumas características fenotípicas e genéticas são distintas entre a forma de infecção hospitalar e a comunitária. Atualmente, verifica-se um perfil de sensibilidade reduzido para diferentes antimicrobianos; sendo assim faz-se necessário um alerta aos profissionais da saúde, particularmente aos dermatologistas, para a importância da distinção entre as formas de infecções, evitando uma terapia empírica incorreta e sem sucesso (GELATTI et al,2009).

Para tentar sanar o problema da resistência aos antimicrobianos, cientistas vem em busca de alternativas naturais para que contribuam para a saúde mundial, podendo encontrar substâncias mais eficazes e menos tóxicas. Uma das alternativas que vem sendo estudadas, são os óleos essenciais de diversas plantas, geralmente extraídos de folhas, flores, sementes, cascas e raízes podendo ser extraídos por meio de diferentes técnicas.

Os óleos essenciais (OE) são compostos químicos voláteis, que são encontrados no metabolismo secundário das plantas. Podem ser extraídos de semente, frutos, flores, cascas e raízes. Suas atividades antimicrobianas estão associadas a compostos, como o terpeno, eugenol, ealicina. Muitos desses compostos possuem princípios ativos que são hidrofóbicos, onde atuam rompendo as paredes celulares microbianas (SILVA et.al,2019).

No Brasil, o emprego de produtos naturais está presente desde antes da colonização, quando os índios já utilizavam empiricamente e transferiram seus conhecimentos aos

colonizadores, tornando-os amplamente utilizados na “medicina caseira” (LIMA et al., 2012). No início os materiais vegetais eram utilizados, exatamente da maneira que eram encontrados depois, com o surgimento de novas tecnologias, começaram a serem concentrados, favorecendo a intensidade e uniformidade de suas ações. Com o avanço da ciência e tecnologia, as substâncias ativas contidas nesses produtos puderam ser identificadas, isoladas, e usadas como moléculas sinteticamente elaboradas, com uma atividade terapêutica mais eficiente (BACCHI et al., 2003).

1.1. ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Melaleuca alternifolia* E *Zingiber officinale*

O óleo de *Melaleuca*, conhecido internacionalmente como *tea tree oil* (TTO), é um óleo essencial volátil obtido através da destilação por arraste a vapor ou hidrodestilação das folhas de uma espécie arbórea originária da Austrália, a *Melaleuca alternifolia*, de grande importância medicinal (CASTRO et al., 2005). Esse óleo essencial possui comprovada ação antimicrobiana contra bactérias e fungos filamentosos patogênicos ou saprófitos (ANDRADE et al., 2003; CARSON et al., 2006).

O óleo essencial das plantas de *Melaleuca alternifolia*, cultivadas na Austrália, caracteriza-se pela mistura aproximada de 97 compostos, a maioria já identificados. Os principais constituintes mais importantes relacionados à atividade antimicrobiana são os compostos que integram uma classe de substâncias de fórmula química geral denominados terpenos, sendo eles, o terpinen-4-ol, 1,8-cineol, α -terpineno, γ -terpineno, α -pineno, β -pineno, α -terpineol, p-cimeno e álcoois sesquiterpênicos, que representam cerca de 90% do óleo (BROPHY et al., 1989; MURTAGH, SMITH, 1996). Tais substâncias permitem a esse óleo apresentar um amplo espectro de ação antibacteriana, que compreende tanto as espécies Gram-positivas quanto as Gram-negativas, além de atividade antifúngica potente. Atribui-se ao óleo de *Melaleuca*, características terapêuticas interessantes como ação antiacne, onicomicose, dermatite, eczema, halitose, dentre outros (PRIEST & PRIEST, 2002; ANDRADE et al., 2003).

O rendimento de óleo essencial para várias espécies do gênero *Melaleuca* ssp. é variável, dependendo de diversos fatores (MURTAGH, 1996). Em *Melaleuca alternifolia* o rendimento é de aproximadamente 1 a 2% do peso fresco da planta utilizada (CARSON, 1993). Devido às suas propriedades farmacológicas, é utilizado em formulações farmacêuticas de vários produtos

como shampoos, sabonetes, cremes dentais, antisséptico bucal, repelente de insetos, produtos veterinários, germicidas de condicionadores de ar, dentre outros (RIEDL,1997).

Outro óleo essencial bastante promissor é o Gengibre (*Zingiber officinale*) que vem sendo empregado há muito tempo como planta medicinal, devido as suas propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, além de possuir propriedades cicatrizantes. Segundo GHASEMZADEH (2016), as atividades antimicrobianas associadas ao gengibre ocorrem devidos aos seus metabólitos secundários e fotoquímicos (compostos flavonoides e fenólicos). RAHMANI (2014) afirma que os compostos associados as atividades antimicrobianas são os não voláteis, ou seja, os que são miscíveis a solventes orgânicos. Sendo assim os extratos de etanol e metanol vão apresentar atividades microbianas mais altas do que os que possuem extratos aquosos.

De acordo com ARAÚJO (1999) o componente majoritário do óleo essencial de gengibre é o zingibereno ($C_{15}H_{24}$). Várias propriedades do gengibre foram comprovadas em experimentos científicos, onde destaca-se atividades anti-inflamatórias, antiemética e anti-náusea, além da atividade antimicrobiana. Essa planta medicinal também apresenta princípios ativos que possuem ação anti-hipertensiva, cardioprotetora, fortalece os vasos capilares agindo na diminuição da fragilidade capilar sendo aplicados em doenças circulatórias. O óleo essencial possui como principal constituinte o terpinen-4-ol, apontando como principal responsável pela ação hipotensora da planta, efeitos hipotensores também são visualizados através do extrato hidro alcoólico da planta (LIMA,2008; DANTAS 2007; PINTO et al. 2010).

Segundo MARTINS (2000) o óleo essencial de *Zingiber officinale* tem como constituintes químicos o gingerol, zingibereno, β -felandreno, citral, canfeno e cineol, entre outros.

Os óleos essenciais possuem muitos compostos, dentre eles está o composto fenólico que também são os principais componentes responsáveis pela ação antimicrobiana. Os compostos fenólicos são hidrofóbicos e o seu sítio de ação é a membrana celular da célula microbiana. Esses compostos se acumulam na bicamada lipídica causando desarranjo na função e na estrutura da membrana e penetram a célula bacteriana, exercendo atividade inibitória no citoplasma celular, provocando lise e liberação do ATP intracelular (WALSH et al.,2013).

1.2. CARACTERÍSTICAS E MECANISMOS DE AÇÃO DOS TERPENOS

Os terpenos são metabólitos secundários de origem natural que são encontrados em uma diversidade de plantas e são os principais componentes dos óleos essenciais, desempenham diversas funções, entre elas mecanismo de defesa contra herbívoros e patógenos (VIEIRA, 2018). São compostos por uma unidade de isopreno (C_5H_8) e desempenham uma variedade de ações biológicas como: anticonvulsivante, anti-inflamatória, sedativa, antinociceptiva e antimicrobiana (ROSA, 2003, ALVIANO, 2005; BATISTA, 2008; CHANG et al, 2014; YANG et al 2014).

Os terpenos apresentam diferentes estruturas entre si, mas são provenientes da geração do 5C como o isopentenil difosfato (IPP) e dimetilalila difosfato (DMAPP). Existem duas vias que podem gerar a unidade C5: a via do mevalonato e a via do fosfato de metileritritol (VIRIATO, 2014; SINGH et al, 2015). A via do mevalonato ocorre no citosol, retículo endoplasmático e peroxissomos. A condensação de acetil-CoA leva a síntese de 3-hidroxi-3 metilglutarilo-CoA que posteriormente produzirá ácido mevalônico. Através de processos de fosforilação e descarboxilação o ácido mevalônico é convertido em isopentenil difosfato (IPP) (SINGH et al, 2015).

Os terpenos podem ser chamados de “alcanos naturais”, quimicamente falando, pois ele apresenta uma dupla ligação carbônica, onde são classificados como hidrocarbonetos (MURRY,2011). Se o terpeno possuir oxigênio é chamado de terpenoide, apresentando diversas funções químicas como: álcool, aldeído, éter, cetonas e ácidos (MAREI et al. 2012).

Os terpenos podem ser classificados de acordo com o número de unidades de isopreno (C_5H_8) em: hemiterpeno (5C), monoterpeno (10C), sesquiterpeno (15C), diterpenos (20C), sesterpenos (25C), triterpeno (30C), tetraterpeno (40C) (VIRIATO, 2014, SINGH et al, 2015). Também podem ser subclassificados em termos de grau de ciclização da molécula em: acíclicos (cadeia aberta), monocíclicos e bicíclicos (DEWICK, 2015).

O mecanismo de ação desses compostos podem ser a: desintegração da membrana citoplasmática levando a desestabilização da força próton-motriz, do transporte ativo, do fluxo de elétrons e da coagulação de conteúdo celular (BURT, 2004).

1.3. ELEMENTOS RELACIONADOS A RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DOS PATÓGENOS

Os elementos relacionados à resistência aos antimicrobianos são genéticos e consistem em mecanismos como: inativação enzimática, bloqueio ou proteção do sítio alvo e alterações relacionadas a permeabilidade da membrana.

Os microrganismos podem expressar resistência intrínseca, ou seja, mecanismos de resistência naturais de um gênero ou espécie, ou podem expressar resistência adquirida, que se originam a partir de mutações nos próprios genes ou pela aquisição dos genes de resistência de outros microrganismos, sendo por conjugação de plasmídeos ou transposons, por transdução via bacteriófago ou transformação devido ao ambiente (DE ANDRADE et.al,2016).

O conhecimento a respeito dos mecanismos bioquímicos e genéticos envolvidos na resistência antimicrobiana é de grande importância, e, apesar destes mecanismos variarem entre as diferentes espécies, a resistência é causada por alguns fatores básicos como a inativação do antimicrobiano, realizada diretamente na molécula bioativa por alterações químicas geralmente promovidas por enzimas; por modificação do alvo, que leva à perda de sensibilidade ao antibiótico; por mudanças na bomba de efluxo e permeabilidade externa da membrana que promovem a redução da concentração do antibiótico sem sua modificação química; por transmissão do alvo, onde os microrganismos se tornam insensíveis a antimicrobianos porque são capazes de transmitir a inativação de uma determinada enzima, ou seja, os antibióticos com mecanismos de ação que envolvem inibição enzimática tornam-se inativos por não terem o alvo para atuar; e por aquisição de vias metabólicas alternativas àquelas inibidas pela droga (WHIGHT, 2010; GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010; VAN HOEK et al., 2011; BHULLAR et al., 2012).

As transferências de genes são associadas a fenômenos como transferência horizontal de genes e mutações (DAVIES,2010). A mutação é uma alteração na sequência de bases do DNA, sendo que podem ser espontâneas ou forçadas. As mutações espontâneas ocorrem na ausência da intervenção de agentes causadores de mutação, como radiação e produtos químicos, sendo o contrário aplicado para as mutações forçadas (TORTORA et al., 2010).

A transferência horizontal de genes é responsável pela disseminação de uma grande variedade de genes de resistência a antimicrobianos entre espécies distintas de bactérias e fungos (GAZE et al, 2011). A transferência horizontal de genes pode ocorrer por meio de mecanismos, como conjugação, transformação e transdução (MUNIESA; COLOMER-LLUCH; JOFRE, 2013). A conjugação refere-se a um processo que transcorre entre células

bacterianas, da mesma ou de diferentes espécies, que, ao entrarem em contato direto, trocam pequenas porções de material genético, como plasmídeos e elementos conjugativos integrativos (BERGLUND, 2015). A transdução envolve bacteriófagos que desempenham um papel na disseminação do DNA entre as bactérias. Estes fazem isso por um processo onde o DNA bacteriano, em vez do DNA do fago, é empacotado na cabeça do fago e injetado na bactéria receptora (VAN HOEK et al., 2011). A transformação ocorre quando DNA “nu” é liberado na lise de um organismo e englobado no material genético por outro. Neste processo, o DNA é absorvido pelas bactérias receptoras e incorporado no genoma do hospedeiro por recombinação homóloga ou transposição (FURUYA; LOWY, 2006; VAN HOEK et al., 2011). Apesar da transferência horizontal de genes ser uma característica comum entre os procariontes, existem fortes evidências de que este processo ocorra também em eucariontes, como os fungos, podendo ter impactos significativos na especificação de nicho, surgimento de doenças ou mudança nas capacidades metabólicas (LUO et al., 2022).

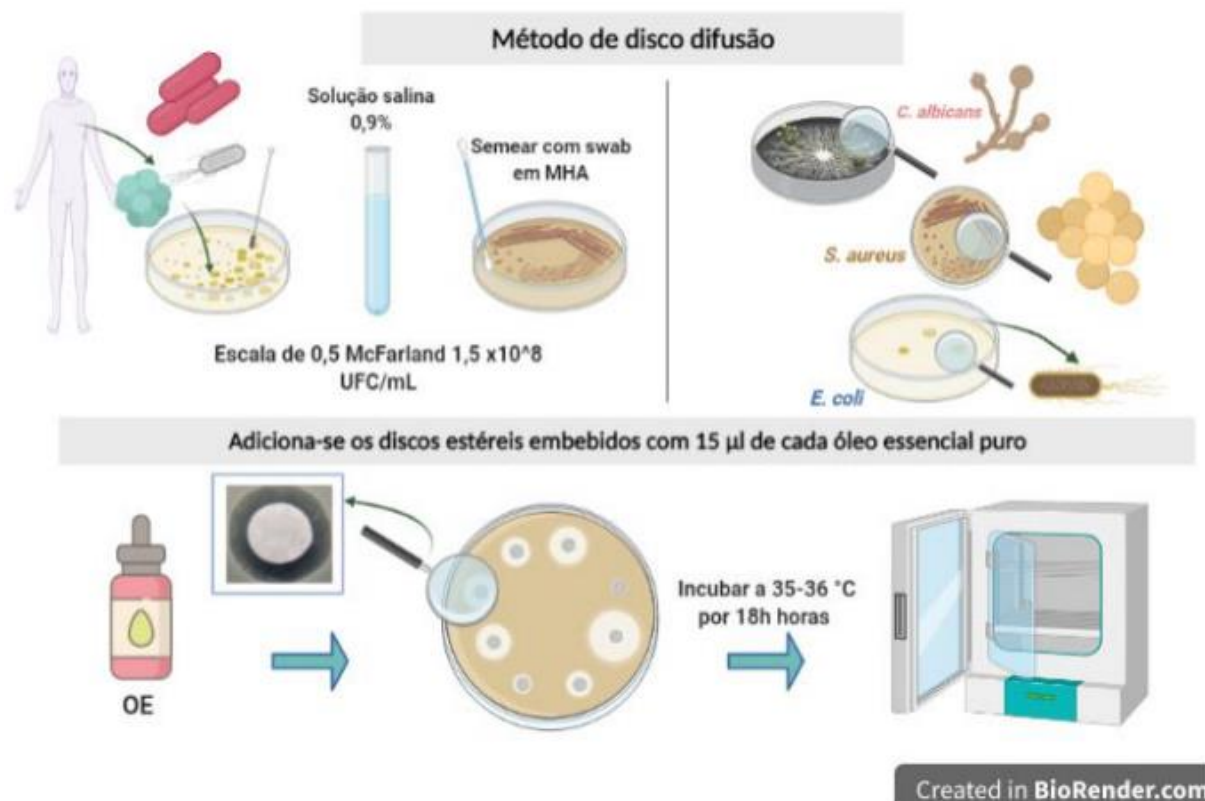
As bactérias têm sido classificadas como resistentes ou sensíveis de acordo com dados de CIM (Concentração Inibitória Mínima) e CBM (Concentração Bactericida Mínima). São resistentes quando inibidas *in vitro* em concentrações superiores àquelas atingidas *in vivo* (LAZARO, FREIRE, 2010). Essa relação concentração da droga-inibição de crescimento não deve ser admitida como completamente verdadeira pois, o sucesso terapêutico não depende exclusivamente dessa relação, mas, por fatores que incluem a capacidade da droga em atingir o foco infeccioso, como é o caso da eritromicina, que é ativa contra o meningococo, mas não penetra o sistema nervoso central. O comprometimento imunológico do paciente alvo da terapia, o quanto essa imunidade pode contribuir para auxiliar a terapêutica quimioterápica, a exemplo dos bacteriostáticos, constitui um fator relevante para o sucesso do tratamento. Dessa forma, um dado microrganismo é sensível ou resistente apenas quando se observa o sucesso ou insucesso terapêutico, respectivamente (LAZARO, FREIRE, 2010). Visto isso, deve-se compreender a terapêutica de uma maneira mais abrangente, menos simplista, considerando-se: droga, microrganismo, farmacocinética e imunidade do paciente, entre outros fatores que podem levar a falhas do tratamento, como, por exemplo, a adesão à terapia, não abordada diretamente nestas considerações.

1.4. MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

Entre os métodos para determinação do grau de sensibilidade a um antimicrobiano o teste de disco-difusão, ilustrado na Figura 1, é muito utilizado, possibilitando a avaliação dos microrganismos frente aos produtos farmacêuticos e fornece evidências de resistência devido à degradação de agentes antimicrobianos por microrganismos (KATZUNG, 2003).

O preparo do inóculo consiste na transferência de colônias dos respectivos microrganismos em tubos contendo 3ml de solução salina numa concentração de 0,9 % até atingir uma turbidez compatível com a escala 0.5 de Macfarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) para as bactérias. Para as leveduras a escala é de 1,0 de Macfarland ($3,0 \times 10^8$ UFC/mL) (RABINOVITCH et al., 2015). Em seguida, as suspensões são cultivadas em placas de Petri contendo Agar Müeller-Hinton (MHA), utilizando-se um *swab* de algodão estéril, por meio de cultivo confluyente. Posteriormente são utilizados discos de papeis estéreis de (6mm de diâmetro) embebidos com 15 μ L dos óleos essenciais puros e secos, à temperatura ambiente, que são depositados na superfície do ágar, já inoculado. As placas são incubadas em 35 °C por 18 horas (SILVEIRA, 2012). Os halos de inibição dos óleos essenciais e do controle de qualidade podem ser vistos a olho nu, com a placa posicionada a 30 cm de distância, sob contraste e os diâmetros são aferidos com régua transparente (BRCAST, 2018). Essa metodologia está de acordo com o documento da BrCast que promove o desenvolvimento e a padronização dos testes de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* no Brasil.

Figura 1. Representação esquemática do método disco-difusão



Fonte: BioRender.com,2022.

Um método utilizado para determinar a concentração mínima de antimicrobianos é o teste de micro diluição em poços. A concentração inibitória mínima (CIM) é a menor concentração do agente antimicrobiano capaz de inibir o crescimento do microrganismo (SANTURIO et al., 2011).

As atividades antimicrobianas dos óleos de Gengibre e Melaleuca são avaliados por ensaios de micro diluições em caldo usando placas de 96 poços, representado na Figura 2, sendo determinadas as concentrações inibitórias mínima para bactérias e fungos. Os óleos são preparados em diversas concentrações e as amostras são diluídas em álcool absoluto. Após isso, as placas de 96 poços são incubadas em estufas de 37°C durante 24 horas, plaqueadas com alíquotas de 50 µl em MHA.

A técnica de microdiluição em caldo corresponde à miniaturização da técnica de macrodiluição conforme pode ser observado na Figura 2. Em vez da utilização de diversos tubos contendo meio de cultura e antimicrobiano, a técnica de microdiluição em caldo utiliza placas

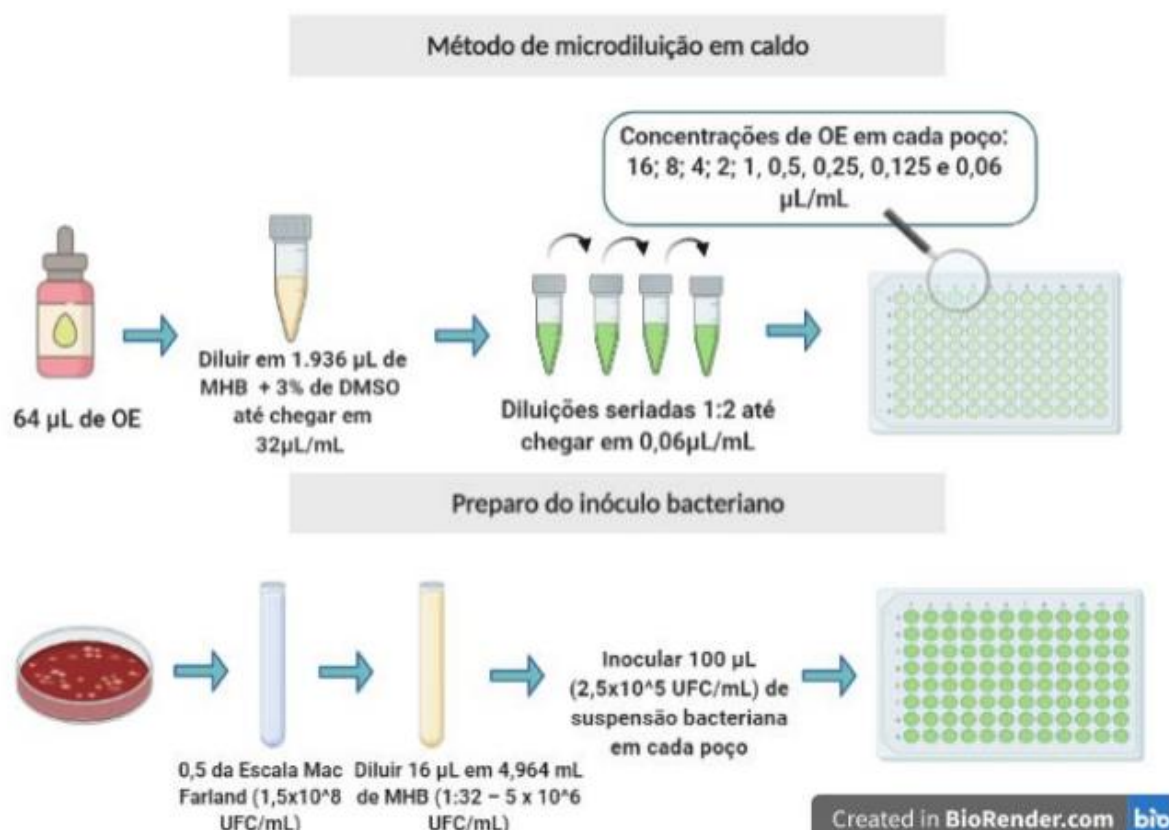
plásticas estéreis, com 96 poços, com o fundo em formato de “U”, para permitir melhor visualização do crescimento bacteriano.

As placas de microdiluição podem conter o antimicrobiano liofilizado ou congelado, e são inoculadas com o auxílio de um dispositivo plástico com o propósito de obter-se uma concentração bacteriana final de aproximadamente 5×10^4 - 10^5 UFC/mL por poço da placa de microdiluição.

Os painéis de microdiluição devem permanecer incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 16 a 20 horas (dependendo do gênero bacteriano e do antimicrobiano testado)

Após a incubação, a leitura da placa, com a determinação da CIM, será realizada visualmente, de preferência com o auxílio de um espelho parabólico, que amplifica a imagem e facilita a leitura

Figura 2. Representação esquemática de micro diluição em caldo.



Fonte: BioRender.com,2022.

2. JUSTIFICATIVA

Os produtos naturais vêm sendo utilizados constantemente em tratamentos de diversas doenças de forma eficaz a um baixo custo. Além disso, podem ser utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica e na agricultura. Com o crescimento do uso de antimicrobianos e a emergência de genes de resistência, faz-se necessária a busca de alternativas com potencial terapêutico. Sendo assim, os princípios ativos encontrados em extratos de plantas naturais fazem com que essa busca seja viável e de grande importância para nós humanos e, no contexto da saúde única, para uso animal e vegetal, reduzindo a utilização massiva de drogas sintéticas.

3. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo a elaboração de uma revisão de literatura sobre os aspectos e determinação da concentração inibitória mínima dos óleos essenciais de Melaleuca e Gengibre sobre as cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*.

4. METODOLOGIA

A revisão de literatura foi realizada com o intuito de selecionar os óleos essenciais que apresentassem atividades antimicrobianas por meio de artigos publicados nos bancos de dados: Pub Med, Google Scholar, Science, Nature. Os descritores utilizados incluíram: “*Melaleuca artemifolia*, *Escherichia coli* OR *Candida albicans* OR *Staphylococcus aureus*, Minimum inhibitory concentration”, “*Zingiber officinale*, *Escherichia coli* OR *Candida albicans* OR *Staphylococcus aureus*, Minimum inhibitory concentration”.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os óleos de Gengibre utilizados nos estudos foram extraídos de diversas formas ou obtidos comercialmente, e a CIM de cada artigo analisado nesta revisão estão dispostos da Tabela 1.

Tabela 1. Concentrações inibitórias mínimas de crescimento microbiano de diferentes preparações e extrações do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*)

Patógeno	Preparação/Extração	CIM	Referência
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Extração por água subcrítica	19,5 µg/ml	Švarc-Gajić et al. 2017
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Extração aquosa	39,1 µg/ml	Švarc-Gajić et al. 2017
<i>Candida albicans</i>	Extração aquosa	6300,0 µg/ml	Lucky et al. 2017
<i>Candida albicans</i>	Extração por etanol	6,3 mg/ml	Lucky et al. 2017
<i>Candida albicans</i>	Extração por metanol	65,5 mg/ml	Agrawal et al., 2018
<i>Candida albicans</i>	Extração por clorofórmio	125,0 mg/ml	Agrawal et al., 2018
<i>Candida albicans</i>	Extração por acetato de etila	250,0 mg/ml	Agrawal et al., 2018
<i>Candida albicans</i>	Extração por éter de petróleo	250,0 mg/ml	Agrawal et al., 2018
<i>Candida albicans</i> 17MR	Óleos essenciais	0,25 mg/ml	López et al., 2017
<i>Candida albicans</i>	Óleos essenciais	<1,0 µl/ml	Sharma et al., 2016
<i>Candida albicans</i>	Óleos essenciais	<2,0 % (v/v)	Hammer et al., 1999
<i>Candida albicans</i>	Óleos essenciais (gengibre em pó)	<1,0 µg/ml	Sasidharan et al., 2010
<i>Candida albicans</i>	Óleos essenciais (gengibre fresco)	<1,0 µg/ml	Sasidharan et al., 2010
<i>Escherichia coli</i>	Extração aquosa	8,70%	Jolly; Menon, 2015
<i>Escherichia coli</i> ATC25922	Extração por água subcrítica	19,5 µg/ml	Švarc-Gajić et al. 2017
<i>Escherichia coli</i>	Extração aquosa	20,2 µg/ml	Chakraborty et al., 2014
<i>Escherichia coli</i> ATC25922	Extração aquosa	39,1 µg/ml	Švarc-Gajić et al. 2017
<i>Escherichia coli</i>	Extração por fervura	>3,3%	Islam et al., 2014
<i>Escherichia coli</i>	Extração por acetona	37,5 µg/ml	Chakraborty et al., 2014
<i>Escherichia coli</i>	Extração por acetato de etila	62,5 mg/ml	Agrawal et al., 2018
<i>Escherichia coli</i>	Extração por clorofórmio	62,5 mg/ml	Agrawal et al., 2018
<i>Escherichia coli</i>	Extração por etanol	34,0 µg/ml	Chakraborty et al., 2014
<i>Escherichia coli</i>	Extração por etanol	75,6 µg/ml	Karuppiyah et al., 2012
<i>Escherichia coli</i>	Extração por etanol	>20,0 mg/ml	Nikolic et al., 2014
<i>Escherichia coli</i>	Extração por etanol	9,0% (v/v)	Pattaratanawadee et al., 2006

<i>Escherichia coli</i>	Extração por etanol aquoso	175,0 mg/ml	Panpatil et al., 2013
<i>Escherichia coli</i>	Extração por éter de petróleo	125,0 mg/ml	Agrawal et al., 2018
<i>Escherichia coli</i>	Extração por metanol	25,0 µg/ml	Yusuf et al., 2018
<i>Escherichia coli</i>	Extração por metanol	26,3 µg/ml	Chakraborty et al., 2014
<i>Escherichia coli</i> MTCC-7399	Extração por metanol	>4096,0 µg/ml	Kaushik; Goyal, 2011
<i>Escherichia coli</i>	Extração por metanol	125,0 mg/ml	Agrawal et al., 2018
<i>Escherichia coli</i>	Nanopartículas de prata	125,0 µg/ml	Mathew et al., 2018
<i>Escherichia coli</i>	Oleo-resina	10,0 mg/ml	Bellik, 2014
<i>Escherichia coli</i>	Óleos essenciais	<2,0 % (v/v)	Hammer et al., 1999
<i>Escherichia coli</i>	Óleos essenciais	>2,0% (v/v)	Hammer et al., 1999
<i>Escherichia coli</i> 82MR	Óleos essenciais	0,75 mg/ml	López et al., 2017
<i>Escherichia coli</i>	Óleos essenciais	1,0 mg/ml	López et al., 2017
<i>Escherichia coli</i>	Óleos essenciais	10,0 mg/ml	Bellik, 2014
<i>Escherichia coli</i>	Óleos essenciais	6,0 µl/ml	Sharma et al., 2016
<i>Escherichia coli</i> MTCC-40	Óleos essenciais	62,5 µl/ml	Debbarma et al., 2013
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração aquosa	13,1 µg/ml	Chakraborty et al., 2014
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	Extração por água subcrítica	39,1 µg/ml	Švarc-Gajić et al. 2017
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	Extração aquosa	78,1 µg/ml	Švarc-Gajić et al. 2017
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por fervura	>12,5 %	Islam et al., 2014
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por acetato de etila	125 mg/ml	Agrawal et al., 2018
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por acetona	61,9 µg/ml	Chakraborty et al., 2014
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por clorofórmio	250 mg/ml	Agrawal et al., 2018
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por etanol	2,0% (v/v)	Pattaratanawadee et al., 2006
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por etanol	2,4 µg/ml	Nikolic et al., 2014
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por etanol	20,3 µg/ml	Chakraborty et al., 2014
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por etanol	68,5 µg/ml	Karuppiah et al., 2012
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por etanol aquoso	52,0 µg/ml	Azadpour et al., 2016
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por etanol aquoso	125,0 mg/ml	Panpatil et al., 2013
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por éter de petróleo	250,0 mg/ml	Agrawal et al., 2018
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por metanol	18,3 µg/ml	Chakraborty et al., 2014
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por metanol	25,0 µg/ml	Yusuf et al., 2018
<i>Staphylococcus aureus</i>	Extração por metanol	125,0 mg/ml	Agrawal et al., 2018
<i>Staphylococcus aureus</i> MTCC-7409	Extração por metanol	512,0 µg/ml	Kaushik; Goyal, 2011
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nanopartículas de prata	62,5 µg/ml	Mathew et al., 2018

<i>Staphylococcus aureus</i>	Oleoresina	50,0 mg/ml	Bellik, 2014
<i>Staphylococcus aureus</i>	Óleos essenciais	0,25 % (v/v)	Vawazola et al., 2018
<i>Staphylococcus aureus</i>	Óleos essenciais	2,0% (v/v)	Hammer et al., 1999
<i>Staphylococcus aureus</i>	Óleos essenciais	100,0 µg/ml	Şener et al., 2017
<i>Staphylococcus aureus</i> FES-I*	Óleos essenciais	0,25 mg/ml	López et al., 2017
<i>Staphylococcus aureus</i> 23MR*	Óleos essenciais	0,5 mg/ml	López et al., 2017
<i>Staphylococcus aureus</i> cc*	Óleos essenciais	0,5 mg/ml	López et al., 2017
<i>Staphylococcus aureus</i> FES-C*	Óleos essenciais	0,5 mg/ml	López et al., 2017
<i>Staphylococcus aureus</i>	Óleos essenciais	8,69 mg/ml	Bellik, 2014
<i>Staphylococcus aureus</i>	Óleos essenciais	50,0 mg/ml	Bellik, 2014
<i>Staphylococcus aureus</i> MTCC-87	Óleos essenciais	7,8 µl/ml	Debbarma et al., 2013
<i>Staphylococcus aureus</i>	Óleos essenciais	8,0 µl/ml	Sharma et al., 2016

ATCC: American Type Culture Collection; MTCC: Microbial Type Culture Collection; MR- Multidrug-resistant bactéria; FES-I = cepas doadas pelo Laboratório de Análises Clínicas da FES Iztacala; FES-C = cepas doadas pelo Laboratório de Microbiologia da FES Cuautitlan; * Estirpes Gram positivas; ** Estirpes Gram negativas; nd = não determinado; CIM: Concentração inibitória mínima.

De acordo com estudos que avaliaram o efeito do óleo essencial de Gengibre, a CIM frente a cepa de *Candida albicans* através de extração aquosa foi de 19,5 a 6300,0 µg/ml. Já as concentrações por método de extração por álcoois, há uma variação entre 6,3 e 250 mg/ml. Um outro estudo encontrou CIM iguais (<1 µg/ml) tanto para os óleos essenciais extraídos de gengibre fresco e em pó (SASIDHARAM et al., 2010).

Os estudos para *Escherichia coli* identificaram que os métodos de extração por álcoois tiveram uma variação de 25 a 75,6 µg/ml. Já os óleos essenciais de diferentes marcas mostraram que a CIM varia de 0,75 até 10 mg/ml e também de 6 µl/ml até 62,5 µl/ml. A extração pelo método aquoso apresentou uma variação de CIM de 19,5 a 39,1 µg/ml.

Para as cepas de *Staphylococcus aureus*, a CIM encontrada pelo método de extração por álcoois teve uma variação de 2,4 a 512,0 µg/ml. Os óleos essenciais de diferentes marcas apresentaram uma variação de CIM de 0,25 a 50 mg/ml. O método de extração aquosa teve uma variação de 13,1 a 78,1 µg/ml.

Os resultados da cepa de *Candida albicans* mostraram que o melhor método de inibição do crescimento com o uso dos óleos essenciais de Gengibre obtidos comercialmente, visto que apresentou a CIM com o menor valor e assim tendo o melhor resultado. Já os resultados da cepa de *Escherichia coli*, mostram que o método de extração em maior potencial para a inibição de crescimento foram os óleos obtidos através da extração com diferentes álcoois. Para

Staphylococcus aureus, os resultados mostraram que o melhor método de inibição foi obtido por extração aquosa, pois apresentou um valor menor da CIM frente as cepas incluídas na análise.

Os resultados mostram que o óleo essencial de gengibre foi eficaz mesmo em concentrações baixas testada em leveduras, comprovando sua alta atividade antimicrobiana. Outros autores também comprovaram atividade antimicrobiana dos óleos de gengibre (ANDRADE, 2012; MAJOLO, 2014; CULTRIM, 2017). As atividades dos óleos essenciais ligados ao uso de extratos com compostos com etanol e metanol são mais altas, em contrapartida, óleos essenciais de gengibre são termolábeis perdendo sua eficácia se exposto a altas temperaturas.

Os óleos de Melaleuca utilizados nos estudos foram obtidos comercialmente de diferentes marcas, e a CIM de cada artigo analisado nesta revisão estão dispostos da Tabela 2.

Tabela 2. Concentrações inibitórias mínimas de crescimento microbiano do óleo essencial de Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*)

Patógeno	Preparação	CIM	Referência
<i>Candida albicans</i>	Óleos essenciais	0,25% (v/v)	Hammer et al., 2004
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	Óleos essenciais	0,25% (v/v)	Di Vito et al., 2015
<i>Candida albicans</i>	Óleos essenciais	0,25% (v/v)	Hammer et al., 1998
<i>Candida albicans</i>	Óleos essenciais	0,25% (v/v)	Mondello et al., 2003
<i>Candida albicans</i>	Óleos essenciais	0,30% (v/v)	Christoph et al., 2000
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	Óleos essenciais	6,0 mg/ml	Vuuren et al., 2009
<i>Escherichia coli</i>	Óleos essenciais	0,031% (v/v)	Kulkarni et al., 2012
<i>Escherichia coli</i>	Óleos essenciais	0,08% (v/v)	Gustafson et al., 1998
<i>Escherichia coli</i>	Óleos essenciais	0,15% (v/v)	Mann et al., 1998
<i>Escherichia coli</i>	Óleos essenciais	0,25% (v/v)	Hammer et al., 1999
<i>Escherichia coli</i>	Óleos essenciais	2% (v/v)	Banes-Marshall et al., 2001
<i>Staphylococcus aureus</i>	Óleos essenciais	0,075% (v/v)	Kulkarni et al., 2012
<i>Staphylococcus aureus</i>	Óleos essenciais	0,5% (v/v)	Hammer et al., 1999
<i>Staphylococcus aureus</i>	Óleos essenciais	0,63% (v/v)	Christoph et al., 2000
<i>Staphylococcus aureus</i>	Óleos essenciais	1,25% (v/v)	Christoph et al., 2000
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Óleos essenciais	6,7 mg/ml	Vuuren et al., 2009

ATCC: American Type Culture Collection; CIM: Concentração inibitória mínima.

Os estudos da cepa de *Candida albicans* mostraram que a CIM varia de 0,25 a 0,30 %). Já para *Escherichia coli* concentrações variaram de 0,031 a 2% (v/v). As cepas de *Staphylococcus aureus* tiveram uma menor variação de CIM de 0,075 a 1,25 % (v/v).

Os resultados dos estudos com os óleos essenciais de Melaleuca tem grande potencial para toda as cepas, visto que o método de extração para os óleos essenciais dessa planta é somente um, já que ela não é nativa do nosso país.

Dentre os resultados relacionados com os óleos essenciais de Gengibre, mostra que a cepa que possui maior resistência ao óleo são as de *Escherichia coli* com o resultado maior na CIM, já as cepas mais susceptíveis aos óleos foram as de *Candida albicans*. Os resultados obtidos para os óleos essenciais de Melaleuca mostraram que a cepa mais resistente foi a *Candida albicans* e a cepa mais susceptível foi a de *Escherichia coli*.

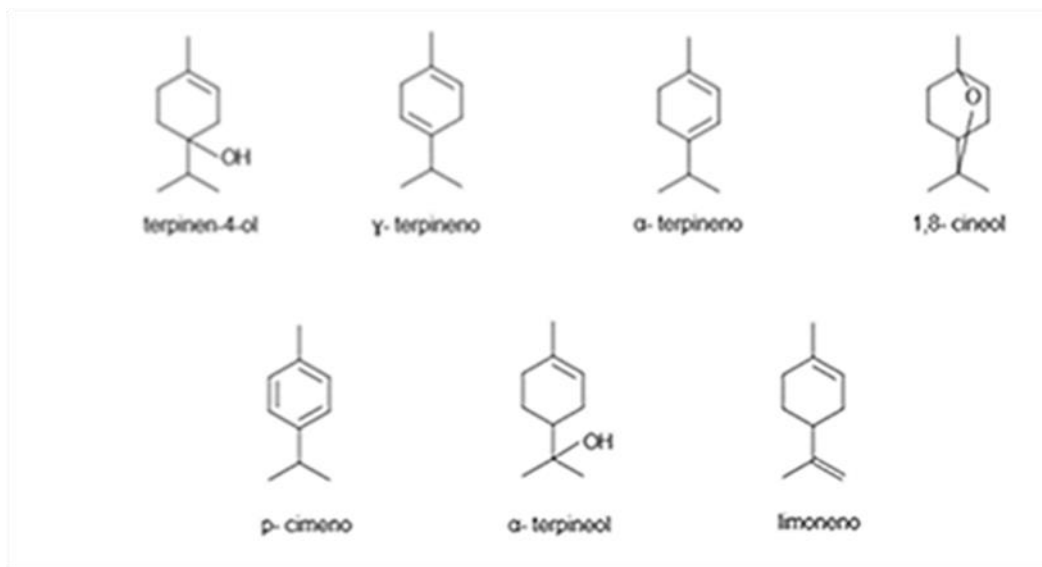
O óleo de Melaleuca apresenta um melhor resultado do que o óleo de Gengibre para *Staphylococcus aureus*, pois apresenta uma menor CIM (v/v), porém é necessário maiores estudos envolvendo outras preparações, visto que foram encontrados poucos estudos analisando o óleo de Melaleuca na inibição de crescimento da *Staphylococcus aureus*. Já o óleo de gengibre foi melhor para *Candida albicans* com um valor de CIM menor, enquanto para a cepa de *Escherichia coli* os resultados da CIM foram melhores com o óleo de Melaleuca.

Não foi possível determinar uma CIM fixa, devido à grande variância nos resultados que pode ser justificado pela variabilidade genética encontrada nos insumos, apresentando concentrações diferentes nos óleos essenciais. Além disso, existem vários métodos de extração que também culminam em uma concentração de compostos químicos diferentes. Outro fator importante é a existência da grande variabilidade genética entre as cepas avaliadas nesta revisão, pois as cepas foram isoladas de locais e culturas diferentes, portanto podem apresentar uma resistência maior ou menor aos antimicrobianos dependendo dos locais que foram isoladas.

Com base nos artigos revisados é possível afirmar que o óleo de Gengibre e de Melaleuca apresentam várias propriedades benéficas que podem ser utilizadas em novos fármacos e outras pesquisas para fins de novos descobrimentos terapêuticos, além dos já comprovados como: ações anti-inflamatórias, analgésicas e antimicrobianas. Os constituintes químicos são de extrema importância, tanto para a descoberta de agentes terapêuticos quanto para descoberta de novas formas econômicas e divulgações de novas substâncias como os terpenos, taninos, alcaloides (BRAZ-FILHO, 1994).

Todos os artigos e citações em livros selecionados para a revisão discutiram sobre os terpenos representados na Figura 3, que são um dos maiores responsáveis pela atividade antimicrobiana do óleo.

Figura 3. Representação química dos componentes da Melaleuca.



Fonte: google imagens-2022

Segundo a International Organization for Standardization, (1996); SILVA et al, (2002) a composição do óleo da *Melaleuca alternifolia* é regulamentada pela norma internacional ISO-4730, que estabelece limites máximos e mínimos para 15 componentes do óleo. Os principais componentes são terpinen-4-ol e 1,8-cineol. O terpinen-4-ol é o marcador da planta, com teor indicado acima de 30%, e o 1,8-cineol não deve exceder 15%, pois este composto não interfere significativamente na ação terapêutica e possui propriedades altamente tóxicas e irritantes. Normalmente os valores encontrados destes dois componentes são de 40% e 3%, respectivamente.

O óleo de Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) apresenta vários monos e sesquiterpenos em sua composição e diversos compostos aromáticos. Os monoterpenos terpinen-4-ol, γ-terpineno, α-terpineno, 1,8-cineol, p-cimeno, α-terpineol, α-pineno, terpinolenes, limoneno e sabineno representam 80-90 % do óleo. De cerca de 100 terpenos encontrados em óleo de Melaleuca mais de 60 substâncias foram identificadas. O teor natural de terpenos no óleo pode variar consideravelmente, dependendo da população de *Melaleuca alternifolia* utilizada, o

clima, a folha, maceração, a idade das folhas e a duração de destilação. Para terpinen-4-ol as concentrações medidas variaram de 28,6% a 57,9%, para γ -terpineno entre 9,5% a 28,3%, para α -terpineno entre 4,6% e 12,8%, para 1,8-cineol de 0,5% a 17,7%, para o p-cimeno a partir de 0,4% a 12,4%, para α -terpineol de 1,5% a 7,6% e para o limoneno a partir de 0,4% a 3,1%. A composição enantiomérica dos componentes principais foi analisada: para terpinen-4-ol a razão enantiomérica era de 65:35 (+ :-) (MIRANDA, SANDRA HOLANDA SÁ de,2014).

A composição do óleo de Melaleuca muda particularmente na presença de oxigênio atmosférico, mas também, quando o óleo é exposto a luz e a temperaturas mais elevadas. Os níveis de α -terpineno, γ -terpineno e terpinoleno diminuí enquanto o nível de p-cimeno aumenta em até dez vezes. Processos de oxidação conduzem à formação de peróxidos e endoperóxidos e epóxidos (European Commission, Health & Consumer Protection; 2004).

Alguns dos componentes presentes no óleo de Melaleuca (terpinen-4-ol, terpinoleno, α -terpineno e α -terpineol) mostraram fortes atividades inibidoras contra as *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*.

Os resultados mostraram que os óleos de Gengibre e Melaleuca foram capazes de inibir o crescimento bacteriano e fúngico (COX et al., 2001) observou a eficácia do TTO (*tea tree oil*) sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* e confirmou que a atividade antimicrobiana resulta da capacidade de romper a barreira de permeabilidade da estrutura da membrana do microrganismo, com consequente perda de material intracelular, incapacidade de manter a homeostase e inibição da respiração.

6. CONCLUSÃO

Na análise realizada por este estudo, conclui-se que os óleos essenciais de Melaleuca e Gengibre foram eficazes na inibição dos microrganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* com grande potencial para futuros produtos farmacêuticos ativos contra estes e outros microrganismos. *Candida albicans* se mostrou mais susceptível ao óleo de gengibre, com valor de CIM mais baixo, já o óleo de Melaleuca mostrou melhor atividade sobre a cepa de *Escherichia coli* estudada.

7. REFERÊNCIAS

- ALVIANO, W. S. et al. Antimicrobial activity of Croton cajucara Benth Linalool-rich essential oil on artificial biofilms and planktonic microorganisms. **Oral Microbiol. Immunol.**, Copenhagen, v. 20, n. 2, p. 101-105, 2005.
- ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L. R.; MALLET, A. C. T.; MACHADO, S. M. F. **Óleos essenciais de Cymbopogon nardus, Cinnamomum zeylanicum e Zingiber officinale: composição, atividades antioxidante e antibacteriana.** Revista Ciência Agronômica, Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, v. 43, n. 2, p. 399-408, abr./jun, 2012
- ANDRADE, N.J.; BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A.J.; NASCIMENTO, E.A.; PINHEIRO, A.L. & SILVA, S.R.S. **Análise dos constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de Malaleuca alternifolia Cheel.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 2003, 6(1): 63-70.
- ANDRADE, N.J.; BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A.J.; NASCIMENTO, E.A.; PINHEIRO, A.L. & SILVA, S.R.S. **Análise dos constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de Malaleuca alternifolia Cheel.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 2003, 6(1): 63-70.
- AURICCHIO, Mariangela T.; BACCHI, Elfried M. Folhas de Eugenia uniflora L.(pitanga): propriedades farmacobotânicas, características e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n. 1, pág. 55-61, 2003.
- AZADPOUR, Mojgan et al. Antimicrobial effect of Ginger (Zingiber officinale) and mallow (Malva sylvestris) hydroalcoholic extracts on four pathogen bacteria. **Der Pharmacia Lettre**, v. 8, n. 1, p. 181-187, 2016.
- BANES-MARSHALL, Lynne; CAWLEY, Patrick; PHILLIPS, Carol A. In vitro activity of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil against bacterial and Candida spp. isolates from clinical specimens. **British Journal of Biomedical Science**, v. 58, n. 3, p. 139, 2001.
- BATISTA, P. A. et al. Evidence for the involvement of ionotropic glutamatergic receptors on the antinociceptive effect of (-)-Linalool in mice. **Neurosci. Lett.**, Amsterdam, v. 440, n. 3, p. 299-303, 2008
- BELLIK, Yuva. Total antioxidant activity and antimicrobial potency of the essential oil and oleoresin of Zingiber officinale Roscoe. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. 1, p. 40-44, 2014.

BERGLUND, B. Environmental dissemination of antibiotic resistance genes and correlation to anthropogenic contamination with antibiotics. **Infection Ecology Epidemiology**, v. 5, p. 1- 10, set. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4565060/>. Acesso em: 03 ago.2022

BERISTAIN-BAUZA, Silvia Del Carmen et al. Antimicrobial activity of ginger (*Zingiber officinale*) and its application in food products. **Food Reviews International**, v. 35, n. 5, p. 407-426, 2019.

BRAZ, R. F. **Química de produtos naturais: importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. A peregrinação de Pacatupano**. Quim. Nova. v. 17, n. 5, p. 1-5, 1994.

Brophy, J.J.; Davies, N.W.; Southwell, I.A.; Stiff, I.A.; Williams, L.R. - Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca terpinen-4-ol* type (Australian tea tree). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1989, v. 37, p. 1330-5

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.

CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antimicrobial activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 49-55, 1993.

CARSON, CF; RILEY, TV Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*. **Cartas em Microbiologia Aplicada** , v. 16, n. 2, pág. 49-55, 1993.

CARSON, Christine F.; MEE, Brian J.; RILEY, Thomas V. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 46, n. 6, p. 1914-1920, 2002.

CASTRO, Ciro de et al. Análise econômica do cultivo e extração do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Revista árvore**, v. 29, p. 241-249, 2005.

CHAKRABORTY, Biswajit et al. Bactericidal activity of selected medicinal plants against multidrug resistant bacterial strains from clinical isolates. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 7, p. S435-S441, 2014.

CHANG, M-Y.; SHEN, Y-L. Linalool Exhibits Cytotoxic Effects by Activating Antitumor Immunity. **Molecules**, Basel, v. 19, n. 5, p. 6694- 6706, 2014.

CHRISTOPH, F.; KAULFERS, P.-M.; STAHL-BISKUP, E. A comparative study of the in vitro antimicrobial activity of tea tree oils sl with special reference to the activity of β -triketones. **Planta medica**, v. 66, n. 06, p. 556-560, 2000.

CHRISTOPH, F.; KAULFERS, P.-M.; STAHL-BISKUP, E. A comparative study of the in vitro antimicrobial activity of tea tree oils sl with special reference to the activity of β -triketones. **Planta medica**, v. 66, n. 06, p. 556-560, 2000.

COX, S. D.; MANN, C. M.; MARKHAM, J. L. Interactions Between **Components of the Essential Oil of *Melaleuca alternifolia***. *Journal of Applied Microbiology*, v.91, p.492-7, 2000.

DAVIES, Julian; DAVIES, Dorothy. Origins and evolution of antibiotic resistance. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 74, n. 3, p. 417-433, 2010.

DEBBARMA, Jesmi et al. Antibacterial activity of ginger, eucalyptus and sweet orange peel essential oils on fish-borne bacteria. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 37, n. 5, p. 1022-1030, 2013

DE ANDRADE, Leonardo Neves; DA COSTA DARINI, Ana Lúcia. **Mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos**. 2016.

DEWICK, Paul M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. John Wiley & Sons, 2002

DI VITO, Maura et al. In vitro activity of tea tree oil vaginal suppositories against *Candida* spp. and probiotic vaginal microbiota. **Phytotherapy Research**, v. 29, n. 10, p. 1628-1633, 2015.

FURTADO, Diego Moreno Fernandes et al. Consumo de antimicrobianos e o impacto na resistência bacteriana em um hospital público do estado do Pará, Brasil, de 2012 a 2016. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 10, 2019

FURUYA, E. Y.; LOWY, F. D. Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting. **Nature Reviews Microbiology**, v. 4, p. 36-45, jan. 2006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16357859>. Acesso em: 03 ago 2022.

GAZE, W. H.; ZHANG, L.; ABDOUSLAM, N. A.; HAWKEY, P. M.; CALVO-BADO, L.; ROYLE, J.; BROWN, H.; DAVIS, S.; KAY, P.; BOXALL, A. B. A.; WELLINGTON, E. M. H. Impacts of anthropogenic activity on the ecology of class 1 integrons and

integron-associated genes in the environment. **The ISME Journal**, v. 5, n. 8, p. 1253-1261, mar. 2011

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E.; RAHMAT, A. Alterações nas atividades antioxidantes e antibacterianas, bem como constituintes fitoquímicos associados ao armazenamento de gengibre e atividade da polifenoloxidase. **BMC Complementary and Alternative Medicine. Bethesda–EUA**, 2016.

GELATTI, Luciane Cristina et al. Staphylococcus aureus resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, p. 501-506, 2009.

GOMPERTZ, Olga Fischman; GAMBALE, Valderez; PAULA, Claudete Rdrigues. Micoses oportunistas e outras micoses: Candidíases, Aspergilose, Mucormicose, Fusariose, Pneumocistose, Peniciliose, Tricosporonose, Oculomicose e Otomicose. **Microbiologia**, p. 888, 2015.

GUSTAFSON, J. E. et al. Effects of tea tree oil on Escherichia coli. **Letters in applied microbiology**, v. 26, n. 3, p. 194-198, 1998.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antifungal effects of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and its components on Candida albicans, Candida glabrata and Saccharomyces cerevisiae. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 53, n. 6, p. 1081-1085, 2004.

HAMMER, Katherine A.; CARSON, Christine F.; RILEY, Thomas V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of applied microbiology**, v. 86, n. 6, p. 985-990, 1999.

HAMMER, Katherine A.; CARSON, Christine Frances; RILEY, Thomas V. In-vitro activity of essential oils, in particular Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and tea tree oil products, against Candida spp. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 42, n. 5, p. 591-595, 1998.

HÉRITIER, Vawazola Nsimaketo Victor et al. Antibacterial and antiplasmodial potentials of essential oils from two plants of Tangawisi products: Zingiber officinalis Roscoe and Monodora myristica (Gaertn) Dunal. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 1, p. 643-648, 2018.

ISLAM, Kamrul et al. antimicrobial activity of ginger (*Zingiber officinale*) extracts against food-borne pathogenic bacteria. **International Journal of Science, Environment and Technology**, v. 3, n. 3, p. 867-871, 2014.

JOLLY, Deepa; MENON, Vrinda. Antibacterial effect of garlic and ginger extracts on *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. **International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture (IJAPSA)**, v. 1, n. 2, p. 2394-5532, 2015.

KARUPPIAH, Ponmurugan; RAJARAM, Shyamkumar. Antibacterial effect of *Allium sativum* cloves and *Zingiber officinale* rhizomes against multiple-drug resistant clinical pathogens. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 2, n. 8, p. 597-601, 2012.

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

KAUSHIK, Purshotam; GOYAL, Pankaj. Evaluation of various crude extracts of *Zingiber officinale* rhizome for potential antibacterial activity: A study in vitro. **Advances in microbiology**, v. 1, n. 1, p. 7, 2011.

KULKARNI, Archana; NASREEN, J.; SEEMA, N. Monitoring of antimicrobial effect of GC-MS standardized *Melaleuca alternifolia* oil (tea tree oil) on multidrug resistant uropathogens. **IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 2, n. 2, p. 06-14, 2012..

LAZARO, A.O, FREIRE, D.O. **Perfil de resistência em infecções comunitárias**. Monografia. 2010.

LIMA, Rafaela K. et al. Atividade bactericida e antioxidante de óleos essenciais de *Myristica fragrans* Houtt e *Salvia microphylla* HBK. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, n. 3, pág. 523-528, 2012.

LÓPEZ, Etna Itzel Curiel et al. Antimicrobial activity of essential oil of *Zingiber officinale* Roscoe (*Zingiberaceae*). **American Journal of Plant Sciences**, v. 8, n. 7, p. 1511-1524, 2017.

LOPPES, A. H. Índice terapêutico fitoterápico. **Petrópolis: EPUB**, 2008.

LUO, Hong et al. Genes and evolutionary fates of the amanitin biosynthesis pathway in poisonous mushrooms. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 119, n. 20, p. e2201113119, 2022.

MAJOLO, C.; NASCIMENTO, V. P.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F. C. M. **Atividade antimicrobiana do óleo essencial de rizomas de açafrão (*Curcuma longa* L.) e gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) frente a salmonelas entéricas isoladas de frango resfriado.** Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.16, n.3, p.505-12, 2014.

MANN, C. M.; MARKHAM, J. L. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. **Journal of applied microbiology**, v. 84, n. 4, p. 538-544, 1998.

MANUAL de Antibiograma, segundo BRCast – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Rev 00– 06/2019. Disponível em Acesso em 03 de junho 2022.

MAREI, G. L. et al. Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v.103, p. 56-61, 2012

Martins, E. R.; Castro, D. M.; Castellani, D. C.; Dias, J. E.; **Plantas medicinais**, UFV: Viçosa 2000.

MATHEW, Shiji; PRAKASH, Anagha; RADHAKRISHNAN, E. K. Sunlight mediated rapid synthesis of small size range silver nanoparticles using *Zingiber officinale* rhizome extract and its antibacterial activity analysis. **Inorganic and Nano-Metal Chemistry**, v. 48, n. 2, p. 139-145, 2018.

MONDELLO, Francesca et al. In vitro and in vivo activity of tea tree oil against azole-susceptible and-resistant human pathogenic yeasts. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 51, n. 5, p. 1223-1229, 2003.

MUNIESA, M.; COLOMER-LLUCH, M.; JOFRE, J. Could bacteriophages transfer antibiotic resistance genes from environmental bacteria to human-body associated bacterial populations? **Mobile Genetic Elements**, v. 3, n. 4, p. 1-4, jul. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3812792/>. Acesso em: 03 agosto.2022

MURTAGH, G. J.; SMITH, G. R. Month of harvest and yield components of tea tree. II. Oil concentration, composition, and yield. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 47, n. 5, p. 817-827, 1996.

NIKOLIĆ, Miloš et al. Antibacterial and anti-biofilm activity of ginger (*Zingiber officinale* (Roscoe)) ethanolic extract. **Kragujevac Journal of Science**, n. 36, p. 129-136, 2014.

- ODDS, Frank C. et al. **Candida e candidose: uma revisão e bibliografia**. Baillière Tindall, 1988.
- PANPATIL, Virendra V. et al. In vitro evaluation on antioxidant and antimicrobial activity of spice extracts of ginger, turmeric and garlic. **Journal of Pharmacognosy and phytochemistry**, v. 2, n. 3, p. 143-148, 2013.
- PATTARATANAWADEE, Ekkarin et al. Antimicrobial activity of spice extracts against pathogenic and spoilage microorganisms. **Agriculture and Natural Resources**, v. 40, n. 5, p. 159-165, 2006.
- PRIEST, D.C. & PRIEST, M.D. **Antimicrobiano e anti inflamatório naturais para acne**. Revista de Cosméticos & Tecnologia, 2002, 14: 55-56
- QIU, Peng-Lei et al. Multi-locus phylogeny and taxonomy of an unresolved, heterogeneous species complex within the genus *Golovinomyces* (Ascomycota, Erysiphales), including *G. ambrosiae*, *G. circumfusus* and *G. spadiceus*. **BMC microbiology**, v. 20, n. 1, p. 1-16, 2020.
- 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.
- RAHMANI, Arshad H. et al. Active ingredients of ginger as potential candidates in the prevention and treatment of diseases via modulation of biological activities. **International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology**, v. 6, n. 2, p. 125, 2014.
- RIEDL, R. W. Practical methods for using tea tree oil. **Agro Food Industry Hi-Tech**, v. 8, n. 5, p. 34-36, 1997.
- Rodríguez-Martínez, J. M., Cano, M. E., Velasco, C., Martínez-Martínez, L., & Pascual, Á. (2011). Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. **Journal of Infection and Chemotherapy**, 17(2), 149-182
- ROSA, M. do S. S. et al. Antileishmanial Activity of a Linalool-Rich Essential Oil from *Croton cajucara*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v. 47, n. 6, p. 1895-1901, 2003
- SANTURIO, Deise Flores; COSTA, Mateus Matiuzzi 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.

SASIDHARAN, Indu; NIRMALA MENON, A. Comparative chemical composition and antimicrobial activity fresh & dry ginger oils (*Zingiber officinale* Roscoe). 2010.

ŞENER, Nesrin et al. Determination of antimicrobial activity and chemical composition of pimento & ginger essential oil. 2017.

SHARMA, Pradeep Kumar; SINGH, Vijender; ALI, Mohammed. Chemical composition and antimicrobial activity of fresh rhizome essential oil of *Zingiber officinale* Roscoe. **Pharmacognosy Journal**, v. 8, n. 3, 2016.

SILVA, S. R. S. et al. Análise dos constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 6, n. 1, p. 63-70, 2003.

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

SINGH, Bharat; SHARMA, Ram A. Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. 3 **Biotech**, v. 5, n. 2, p. 129-151, 2015

SUDBERY, Peter E. Growth of *Candida albicans* hyphae. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 737-748, 2011.

ŠVARC-GAJIĆ, Jaroslava et al. Characterisation of ginger extracts obtained by subcritical water. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 123, p. 92-100, 2017.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiology: an introduction**. 10. ed. San Francisco, EUA: Benjamin Cummings, 2010. 960 p.

VAN HOEK, A. H. A. M.; MEVIUS, D.; GUERRA, B.; MULLANY, P.; ROBERTS, A. Paul; AARTS, H. J. M. Acquired antibiotic resistance genes: an overview. **Frontiers in Microbiology**, v. 2, p. 1-27, set. 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3202223/>. Acesso em: 03 ago.2022

VAN VUUREN, S. F.; SULIMAN, S.; VILJOEN, A. M. The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials. **Letters in applied microbiology**, v. 48, n. 4, p. 440-446, 2009.

VIEIRA, A. J. et al. Limonene: Aroma of innovation in health and disease. **Chemicobiological interactions**, 2018.

VIRIATO, Airton. Terpenoides com atividade antifúngica para Candida Berkhout, causadoras de infecções hospitalares. **O Mundo Da Saúde**, v. 38, n. 1, p. 40-50, 2014.36

WALSH, S. E.; MAILLARD J.-Y.; RUSSELL, A. D.; CATRENICH, C. E.; CHARBONNEAU, D. L., BARTOLO, R. G. Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents

on

-positive and -negative bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 94, p. 240-247, 2003.