



APLICAÇÃO DO MÉTODO CHECKERBOARD PARA AVALIAÇÃO DE SINERGISMO ANTIBACTERIANO EM ÓLEOS ESSENCIAIS: UMA REVISÃO

APPLICATION OF THE CHECKERBOARD METHOD TO EVALUATE
ANTIBACTERIAL SYNERGISM IN ESSENTIAL OILS: A REVIEW

Vimerson Matheus Lucena de Oliveira^{1}, Kilma Gabrielle Barbosa Pimentel², Jessé de
Oliveira da Silva², Ana Clara Vieira da Cunha², Niedja Eloi de Sousa Guimarães², Felipe
Hugo Alencar Fernandes^{1,2}*

¹UNIFACISA Centro Universitário, Campina Grande, PB, Brasil.

²Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campina Grande, PB, Brasil.

*Autor para Correspondência: vimersonfarm@gmail.com

RESUMO

O aumento contínuo do número de cepas bacterianas resistentes à antibióticos tem se tornado um grande problema de saúde pública em nível mundial. Cada vez mais se torna necessária a busca por novas estratégias e alternativas para lidar com as infecções causadas por bactérias resistentes. Uma alternativa é a combinação de antibióticos com outras substâncias naturais ou sintéticas bioativas, como por exemplo os óleos essenciais (OE). O método *Checkerboard* (CKB) avalia/quantifica o efeito dessas interações sobre o crescimento bacteriano *in vitro*. Desta forma, este estudo teve por objetivo destacar a aplicação do ensaio CKB na avaliação do sinergismo antibacteriano entre óleos essenciais e antibióticos convencionais, apresentando resultados promissores disponíveis na literatura. Foi realizada uma busca de artigos científicos publicados em bases de dados como o Science Direct e Pubmed, utilizando como descritores “checkerboard” e “essential oil”, com o intervalo de tempo limitado aos últimos dez anos. No total, foram encontradas 111 publicações e destes foram



selecionados 19 trabalhos. Por conseguinte, encontramos vinte e cinco OEs diferentes. Observamos que 48% desses OEs fazem parte da família botânica Lamiaceae, seguido da Myrtaceae (16%) e Lauraceae (12%). Notou-se também que os microrganismos mais selecionados para os estudos foram *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*. Os resultados mais significativos de sinergismos ocorreram quando foi feita a associação do OE de *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae)/amicacina e *Citrus limon* (Rutaceae)/amicacina, contra cepas de *A. baumannii*, onde cada associação obteve um índice de concentração inibitória fracionada (ICIF) de 0.04. Entretanto, a associação do OE de *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) com o ciprofloxacino, contra a cepa de *S. aureus*, resultou em antagonismo (ICIF = 4.25). No geral, muitos OEs apresentaram interações sinérgicas e, uma boa parte desses óleos são da família Lamiaceae e possuem terpenóides em sua composição, como por exemplo *Mentha piperita*, *Ocimum basilicum* e *Thymus maroccanus*. Pode-se dizer que os terpenos são os compostos com atividade biológica contra bactérias, fungos e protozoários. Portanto, com a aplicação do método CKB, foi possível identificar resultados promissores com relação a novas opções de tratamentos contra algumas doenças infecciosas. Contudo, é essencial uma compreensão maior dos mecanismos sinérgicos dos OEs para que possam ser colocados em uso na prática clínica em combinação com antibióticos.

Palavras-chave: Antibacterianos. Óleos voláteis. Sinergismo farmacológico.

ABSTRACT

The continuous increase in the number of antibiotic-resistant bacterial strains has become a major public health problem worldwide. The search for new strategies and alternatives for dealing with infections caused by resistant bacteria is becoming increasingly necessary. One alternative is the combination of antibiotics with other natural or synthetic bioactive substances, such as essential oils (EO). The *Checkerboard* method (CKB) evaluates/quantifies the effect of these interactions on bacterial growth *in vitro*. Thus, this study aimed to highlight the application of the CKB assay in the evaluation of antibacterial synergism between essential oils and conventional antibiotics, presenting promising results



available in the literature. A search for scientific articles published in databases such as Science Direct and Pubmed was conducted using as descriptors "checkerboard" and "essential oil", with the time interval limited to the last ten years. In total, 111 publications were found and of these, 19 papers were selected. Consequently, we found twenty-five different OEs. We observed that 48% of these EOs are part of the botanical family Lamiaceae, followed by Myrtaceae (16%) and Lauraceae (12%). We also noticed that the most selected microorganisms for the studies were *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii*. The most significant synergism results occurred when the association of the EO of *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae)/amicacin and *Citrus limon* (Rutaceae)/amicacin, against strains of A. However, the association of *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) EO with ciprofloxacin against *S. aureus* resulted in antagonism (ICIF = 4.25). Overall, many EOs showed synergistic interactions, and a good part of these oils are from the Lamiaceae family and have terpenoids in their composition, for example *Mentha piperita*, *Ocimum basilicum* and *Thymus maroccanus*. Terpenes can be said to be the compounds with biological activity against bacteria, fungi, and protozoa. Therefore, with the application of the CKB method, promising results could be identified regarding new treatment options against some infectious diseases. However, a greater understanding of the synergistic mechanisms of EOs is essential if they are to be put to use in clinical practice in combination with antibiotics.

Keywords: Antibacterials. Volatile oils. Pharmacological synergism.

1 INTRODUÇÃO

A resistência das bactérias à terapia com antibióticos é uma emergência cada vez mais séria. Nos últimos anos, alguns projetos de pesquisa têm se concentrado no desenvolvimento de novos compostos, especialmente compostos derivados de plantas, com potencial atividade antibacteriana para evitar esse problema (CHOUHAN; SHARMA; GULERIA, 2017; ROSATO et al., 2018; ZHANG et al., 2021). Não é de hoje que as plantas



medicinais vêm sendo utilizadas para tratar doenças infecciosas, devido às suas propriedades farmacológicas (NAFIS et al., 2019).

Na realidade, em razão da sua biodiversidade, as plantas constituem uma grande reserva de substâncias ativas, principalmente os óleos essenciais (OE). As propriedades farmacológicas dos OE vêm sendo estudada em detalhes e podem ser uma fonte promissora de antibióticos naturais, pois, a complexidade de sua composição química torna extremamente difícil para as bactérias desenvolverem resistência (BASSOLÉ; JULIANI, 2012; CHOUHAN; SHARMA; GULERIA, 2017; LANGEVELD; VELDHUIZEN; BURT, 2014; ROSATO et al., 2018; SALEM et al., 2018). O mecanismo pelo qual os OEs inibem os microrganismos ainda não foi totalmente elucidado, mas pode envolver diferentes modos de ação, em parte é devido à sua hidrofobicidade. Devido a isso, vários componentes dos OEs podem penetrar nas membranas celulares e aumentar a penetração dos antibióticos (GUERRA et al., 2012).

Pela escassez de novos antimicrobianos, o uso de antibióticos combinados se tornou uma alternativa capaz de reduzir significativamente a dose do tratamento e ao mesmo tempo reduzir a toxicidade de alguns antibióticos relacionada à dose terapêutica, como a polimixina B e os aminoglicosídeos (MEDEIROS, 2012). Uma possível alternativa para solucionar esse problema é utilizar OEs como adjuvantes aos antibióticos, com o objetivo de obter interações sinérgicas. (LANGEVELD; VELDHUIZEN; BURT, 2014; MILENKOVIĆ; STOŠOVIC; SLAVKOVSKA, 2018). O método Checkerboard (CKB) é a técnica mais comumente utilizada para avaliação *in vitro* de sinergia entre substâncias com capacidade antibacteriana. Por meio da sinergia, é possível obter informações sobre o potencial dessa combinação para o tratamento de infecções (MEDEIROS, 2012).

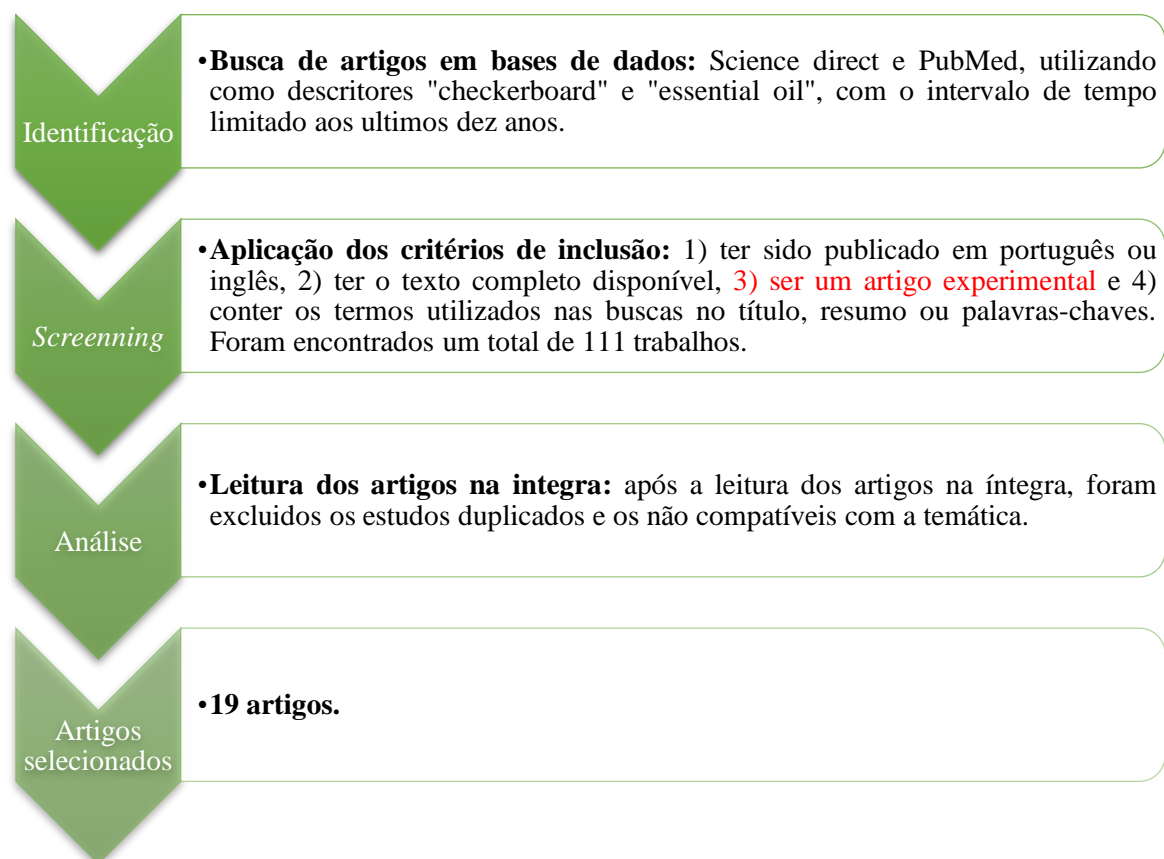
Vários estudos descreveram atividades sinérgicas ou aditivas entre diversos antibióticos existentes e OE inteiros (AZZAM, 2020; EL ATKI et al., 2019; FADLI et al., 2012; MILENKOVIĆ; STOŠOVIC; SLAVKOVSKA, 2018; ROSATO et al., 2018; ZHANG et al., 2021). A interação sinérgica entre OE de plantas e antibióticos pode constituir uma alternativa potencial para combater o crescimento e disseminação de bactérias multirresistentes (NAFIS et al., 2019; ROSATO et al., 2018).

Desta forma, este estudo teve por objetivo destacar a aplicação do método CKB na avaliação do sinergismo antibacteriano entre óleos essenciais e antibióticos convencionais, apresentando resultados promissores disponíveis na literatura.

2 METODOLOGIA

Para esta revisão foram definidas palavras-chave que foram usadas na busca em bancos de dados científicos. As etapas da revisão estão descritas na figura 1.

Figura 1 - Fluxograma das etapas da revisão.





3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A TÉCNICA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O método CKB é basicamente uma técnica que avalia o efeito combinatório entre uma substância-teste e diferentes concentrações de antibióticos. É um método de microdiluição em caldo e tem esse nome devido a forma com que as diluições dos antibióticos são distribuídas na microplaca, como se fosse um tabuleiro de xadrez. É uma técnica semelhante ao método usado para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) (ROZATTO, 2012). A CIM é definida como a concentração mais baixa do agente antimicrobiano que inibe o crescimento visível da cepa testada (FADLI et al., 2012).

É um teste de fácil interpretação, seus cálculos e resultados são simples e requer materiais que podem ser encontrados em qualquer laboratório de microbiologia. A vantagem desse método é que, além de usar uma pequena quantidade (volume) de cada medicamento/substância testada, ele também pode testar várias combinações de dois antimicrobianos em concentrações diferentes na mesma amostra (MEDEIROS, 2012).

A diluição testada é baseada na CIM da substância e, geralmente, varia de alguns passos abaixo da CIM esperada até uma concentração que é o dobro da CIM esperada (WHITE et al., 1996). A interpretação desse teste de sinergia pode variar de acordo com cada autor (BONAPACE et al., 2002).

A partir dos resultados obtidos, é possível determinar a concentração inibitória fracionada (CIF) de cada substância-teste estudada isoladamente e em cada combinação (SALEM et al., 2018; VAN VUUREN; VILJOEN, 2011). O cálculo da CIF basicamente é uma conversão da CIM em CIF (SALEM et al., 2018; WHITE et al., 1996) e é feita utilizando as seguintes equações (Eq1 e Eq2):

$$CIF (A) = \frac{CIM_{(\text{Substância A em combinação})}}{CIM_{(\text{Substância A isolada})}} \quad (\text{Eq1})$$



$$\text{CIF (B)} = \frac{\text{CIM}_{(\text{Substância B em combinação})}}{\text{CIM}_{(\text{Substância B isolada})}} \quad (\text{Eq2})$$

A interação é calculada por outra equação (Eq3), obtendo-se o índice de concentração inibitória fracionada (ICIF) (VAN VUUREN; VILJOEN, 2011). Os resultados são comparados com o valor da CIM da substância-teste e do antibiótico isolado para determinar se a interação/terapia é viável (ROZATTO, 2012; WHITE et al., 1996), pois, esses efeitos sinérgicos, na maioria dos casos, podem ser capazes de diminuir a quantidade de antibiótico necessária para inibir cepas bacterianas (NAFIS et al., 2019).

$$\text{ICIF} = \text{CIF}_{(\text{Substância A})} + \text{CIF}_{(\text{Substância B})} \quad (\text{Eq3})$$

Quando o efeito combinado é maior do que a soma dos efeitos das duas substâncias separadas, o efeito é sinérgico. Quando o efeito combinado é igual à soma das substâncias individuais, as interações entre os antimicrobianos são aditivas. A aditividade às vezes é chamada de indiferença porque não há interação entre os agentes antimicrobianos testados. Quando o efeito combinado é menor que a soma das substâncias individuais, é denominado antagonismo (LANGEVELD; VELDHUIZEN; BURT, 2014; WHITE et al., 1996).

Dentre as limitações desse método, é que ele determina apenas a atividade inibitória da combinação e não a atividade bactericida (MEDEIROS, 2012). As medições geralmente são feitas em um determinado momento e, portanto, não podem fornecer uma visão dinâmica das interações antimicrobianas (LANGEVELD; VELDHUIZEN; BURT, 2014). Além disso, os leitores muitas vezes não conseguem determinar o método de interpretação usado na pesquisa. Essa variabilidade da interpretação da técnica, pode explicar em parte os resultados conflitantes de estudos que relatam interações com antibióticos, aparentemente usando o mesmo método. Portanto, uma padronização da interpretação seria desejável (BONAPACE et al., 2002).



White e colaboradores (1996) interpretaram a interação como sinérgica quando o valor do ICIF fosse $\leq 0,5$, indiferente quando o ICIF fosse $>0,5$ e ≤ 4 , antagônico quando o ICIF fosse >4 . Entretanto, Moon, Kim e Cha (2011), em seu estudo, estabeleceram as interações como sinérgicas se o ICIF fosse $\leq 0,5$, aditiva se o ICIF $>0,5$ e $\leq 1,0$, indiferente se o ICIF fosse $>1,0$ e $\leq 2,0$, antagônico se o ICIF fosse $> 2,0$.

Porém, há estudos como o de Salem e colaboradores (2018), que introduziram uma outra interação, chamada de interação sinérgica parcial, alterando algumas das classificações descritas anteriormente. Sendo assim, o sinergismo seria constatado quando o ICIF fosse $\leq 0,5$, parcialmente sinérgico quando estivesse entre 0.5–0.75, aditivo quando se encontrasse entre 0.76–1.0, indiferente (não interativo) quando fosse $>1,0$ –4.0 e antagônico se os valores de ICIF fossem >4 .

A tabela 1 mostra as diferentes classificações dos ICIFs, de acordo com vários autores.

Tabela 1 - Classificação do ICIF descrito de acordo com os autores correspondentes.

| Sinergismo | Interação | | | | Referências |
|------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------|---------------------------|
| | Sinergia parcial | Aditivo | Indiferente | Antagonismo | |
| $\leq 0,5$ | - | - | $>0,5 - \leq 4,0$ | $>4,0$ | White et al., 1996 |
| $\leq 0,5$ | - | $>0,5 - \leq 1,0$ | $>1,0 - \leq 2,0$ | $>2,0$ | Moon et al., 2011 |
| $\leq 0,5$ | - | $>0,5 - 1,0$ | $>1,0 - \leq 4,0$ | $>4,0$ | Van Vuuren; Viljoen, 2011 |
| $\leq 0,5$ | - | $>0,5 - <1,0$ | - | $>1,0$ | Rosato et al., 2010 |
| $\leq 0,5$ | $0,5 - \leq 0,75$ | - | $0,75 - \leq 2,0$ | $>2,0$ | Fadli et al., 2012 |
| $\leq 0,5$ | $0,5 - 0,75$ | $0,76 - 1,0$ | $>1,0 - 4,0$ | $>4,0$ | Salem et al., 2018 |
| $\leq 0,5$ | - | $0,5 - <1,0$ | $1,0 - <4,0$ | $>4,0$ | El Atki et al., 2019 |
| $\leq 0,5$ | - | $0,5 - \leq 1,0$ | $1,0 - 4,0$ | $>4,0$ | Azzam, 2020 |



3.2 RESULTADOS PROMISSORES

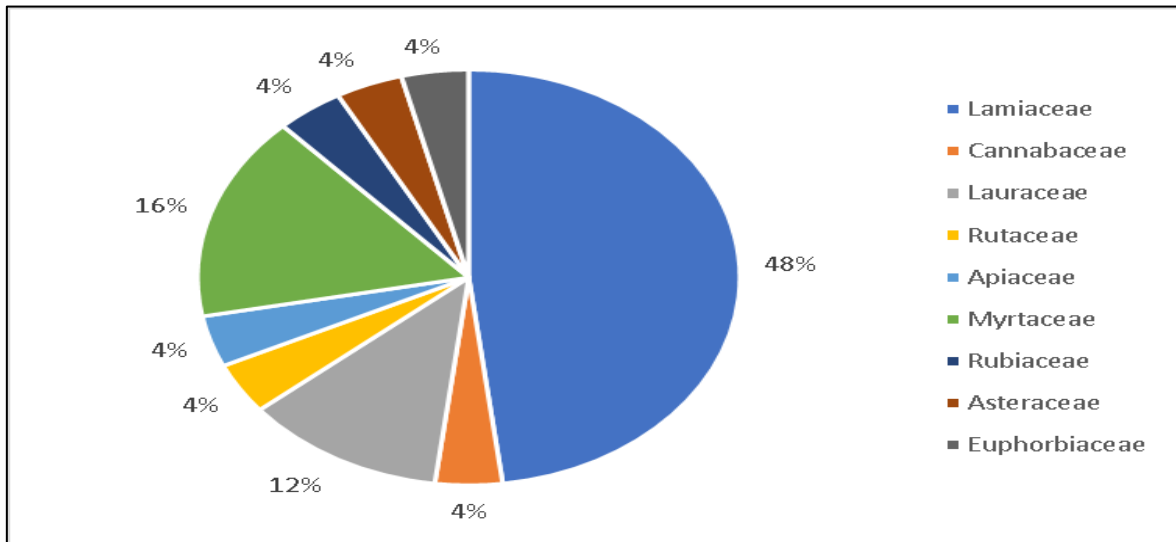
Foram encontrados 25 OE diferentes e, observou-se que 48% dos OE estudados são de plantas que fazem parte da família botânica Lamiaceae, seguido da Myrtaceae (16%) e Lauraceae (12%) (Figura 2).

A combinação do OE de limão (*Citrus limon*) com amicacina e associação do OE de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) com amicacina mostrou ser sinérgica, contra cepas de *Acinetobacter baumannii*. Cada associação obteve um ICIF de 0.04, caracterizando uma forte interação sinérgica (GUERRA et al., 2012). A predominância do limoneno e do trans-cinamaldeído nos OEs de limão e canela, respectivamente, podem fundamentar essa atividade sinérgica. O cinamaldeído atua principalmente na ruptura da membrana pela inibição da atividade ATPase (LANGEVELD; VELDHUIZEN; BURT, 2014).

Interações sinérgicas também foram observadas a partir da combinação do OE de coentro (*Coriandrum sativum*) com o ciprofloxacino, cloranfenicol, gentamicina e tetraciclina contra cepas de *A. baumannii* (DUARTE et al., 2012). Apesar de serem de famílias botânicas distintas, o *C. limon* e *C. sativum* possuem o γ -terpineno em comum. Esse metabólito atua diretamente no rompimento da membrana dos microrganismos (DELAQUIS et al., 2002; KASRATI et al., 2013; LANGEVELD; VELDHUIZEN; BURT, 2014).

Rosato e colaboradores (2018) investigaram a associação do OE de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) com a gentamicina e ampicilina. Os resultados mostraram uma interação sinérgica com a gentamicina, contra todas as cepas bacterianas testadas. Resultados significativos foram constatados contra as cepas gram-positivas de *Bacillus subtilis* (ICIF = 0.07), *Bacillus cereus* (ICIF = 0.08) e gram-negativa de *Pseudomonas aeruginosa* (ICIF = 0.08). Já a associação entre o mesmo OE e a ampicilina demonstrou um maior efeito sinérgico contra *B. subtilis* (ICIF = 0.13). A atividade antibacteriana e a sinergia do OE podem ser atribuídas ao alto percentual de monoterpenos oxigenados contida no OE. Um destaque para o mentol, componente majoritário desse óleo (ROSATO et al., 2018).

Figura 2 - Família botânica dos OEs testados.



Fonte: Dados da pesquisa.

Azzam (2020) investigou a interação do OE de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) com seis antibióticos diferentes. A combinação com a ceftriaxona (ICIF = 0.21) e vancomicina (ICIF = 0.26) mostraram ter uma ótima interação sinérgica contra *Staphylococcus aureus*.

O OE de *Cannabis sativa* foi testado, quanto à sinergia, com o ciprofloxacino. Os resultados demonstraram um efeito sinérgico total contra *B. subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *S. aureus* (ICIF = 0.27, 0.28, 0.5 e 0.38, respectivamente) (NAFIS et al., 2019).

Um estudo que investigou o OEs extraídos de duas espécies de tomilho (*Thymus maroccanus* e *Thymus broussonetii*), relatou efeitos sinérgicos em combinação com cefixima, ciprofloxacino, gentamicina e pristinamicina. Foram testadas 80 combinações entre dois OEs e os quatro antibióticos. A melhor atividade sinérgica foi constatada com a combinação do OE de *T. maroccanus* e o ciprofloxacino, onde obteve-se um ICIF de 0.09 contra a cepa de *B. subtilis*. O OE de *T. broussonetii* também alcançou esse mesmo valor de ICIF quando associado à gentamicina (FADLI et al., 2012).

A associação do OE de manjeriço (*Ocimum basilicum*) com o imipenem resultou em sinergia contra cepas de *S. aureus* e *P. aeruginosa* (ICIF = 0.06). A conciliação desse



OE com o ciprofloxacino também mostrou ser sinérgica contra *P. aeruginosa* (ICIF = 0.09), entretanto, essa mesma combinação resultou em antagonismo contra a cepa de *S. aureus* (ICIF = 4.25). Acredita-se que os efeitos sinérgicos possam ser devido às propriedades antibacterianas dos monoterpenos, onde pode haver o aumento de um dos três fatores que determinam essas propriedades: sua lipofilicidade, a eficácia de seus grupos funcionais e a solubilidade em água produzida quando emparelhados e combinados (SILVA et al., 2016).

Um estudo que investigou a interação de OEs de plantas do gênero *Calamintha*, endêmica da península Balcânica e da Ásia Ocidental, com o ciprofloxacino e a gentamicina, relatou que a combinação dos OEs e os dois antibióticos apresentaram efeitos sinérgicos (ICIF = 0.25-0.50) e aditivos (ICIF = 0.62) contra *Salmonella abony*. É possível observar que, curiosamente, quando usados em combinação com gentamicina, todos os OEs mostraram efeitos antagônicos (ICIF = 2.12) contra *E. coli* (Tabela 4), enquanto junto com o ciprofloxacino demonstrou efeito sinérgico (ICIF = 0.25) à indiferente (ICIF = 1.12) (Tabela 2) (MILENKOVIĆ; STOŠOVIĆ; SLAVKOVSKA, 2018).

Os efeitos sinérgicos do OE de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) com ampicilina e gentamicina foram testados contra vários patógenos periodontos. A combinação com a ampicilina demonstrou ser sinérgica contra todas as cepas estudadas. O estudo também classificou a combinação com a gentamicina como sendo uma interação sinérgica contra todas as bactérias, exceto pelo efeito aditivo contra *Streptococcus rattii* (MOON; KIM; CHA, 2011). A presença majoritária do eugenol pode justificar os efeitos aditivos. O eugenol é um fenilpropanóide que atua na ruptura da membrana inibindo a atividade da ATPase, é um possível bloqueador da bomba de efluxo, reduzindo assim vários fatores de virulência em concentrações subinibitórias (LANGEVELD; VELDHUIZEN; BURT, 2014).

Os resultados da combinação do OE de *Mallotus repandus* com a estreptomomicina contra *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, apresentaram índices CIF ≤ 0.5 , caracterizando a interação como sinergia (ZHANG et al., 2021). A tabela 2 mostra os resultados de vários estudos que utilizaram o método CKB para avaliar interações entre OE e antimicrobianos.



Tabela 2 - Estudos de sinergia *in vitro* entre OEs e antibióticos utilizando o método checkerboard.

| Óleo essencial | Antibiótico | Microrganismo* | SE** | Referência |
|--|----------------|-----------------------------|------|-------------------------|
| <i>Calamintha glandulosa</i> (Lamiaceae) | Ciprofloxacino | <i>E. coli</i> (0.62) | AD | Milenković et al., 2018 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.62) | AD | |
| | | <i>S. abony</i> (0.62) | AD | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.75) | AD | |
| | Gentamicina | <i>E. coli</i> (2.12) | AN | Milenković et al., 2018 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.62) | AD | |
| | | <i>S. abony</i> (0.62) | AD | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.25) | S | |
| <i>Calamintha nepeta</i> (Lamiaceae) | Ciprofloxacino | <i>E. coli</i> (1.12) | IN | Milenković et al., 2018 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.50) | S | |
| | | <i>S. abony</i> (0.25) | S | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.75) | AD | |
| | Gentamicina | <i>E. coli</i> (2.12) | AN | Milenković et al., 2018 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.75) | AD | |
| | | <i>S. abony</i> (0.50) | S | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.25) | S | |
| <i>Calamintha sylvatica</i> (Lamiaceae) | Ciprofloxacino | <i>E. coli</i> (0.25) | S | Milenković et al., 2018 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.62) | AD | |
| | | <i>S. abony</i> (0.25) | S | |
| | | <i>S. aureus</i> (2.17) | AN | |
| | Gentamicina | <i>E. coli</i> (2.12) | AN | Milenković et al., 2018 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.62) | AD | |
| | | <i>S. abony</i> (0.50) | S | |
| | | <i>S. aureus</i> (1.23) | IN | |
| <i>Calamintha vardarensis</i> (Lamiaceae) | Ciprofloxacino | <i>E. coli</i> (0.25) | S | Milenković et al., 2018 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (1.12) | IN | |
| | | <i>S. abony</i> (0.25) | S | |

(Continua)

Tabela 2 – Continuação.

| Óleo essencial | Antibiótico | Microrganismo* | SE** | Referência |
|---|------------------|-----------------------------|------|-------------------------|
| | | <i>S. aureus</i> (2.12) | AN | |
| | Gentamicina | <i>E. coli</i> (2.12) | AN | Milenković et al., 2018 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.62) | AD | |
| | | <i>S. abony</i> (0.50) | S | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.99) | AD | |
| <i>Cannabis sativa</i> (Cannabaceae) | Ciprofloxacino | <i>B. subtilis</i> (0.27) | S | Nafis et al., 2019 |
| | | <i>E. coli</i> (0.28) | S | |
| | | <i>K. pneumoniae</i> (0.50) | S | |
| | | <i>M. luteus</i> (0.75) | SP | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.75) | SP | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.38) | S | |
| <i>Cinnamomum cassia</i> (Lauraceae) | Ampicilina | <i>E. coli</i> (1.25) | IN | El Atki et al., 2019 |
| | | <i>S. aureus</i> (0.38) | S | |
| | Cloranfenicol | <i>E. coli</i> (0.50) | S | El Atki et al., 2019 |
| | | <i>S. aureus</i> (0.50) | S | |
| | Estreptomomicina | <i>E. coli</i> (1.00) | AD | El Atki et al., 2019 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (1.00) | AD | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.75) | AD | |
| <i>Cinnamomum verum</i> (Lauraceae) | Ampicilina | <i>E. coli</i> (0.75) | IN | Yap et al., 2013 |
| | Carbenicilina | <i>E. coli</i> (2.00) | IN | Yap et al., 2013 |
| | Cefazolina | <i>E. coli</i> (0.63) | IN | Yap et al., 2013 |
| | Ceftazidima | <i>E. coli</i> (2.00) | IN | Yap et al., 2013 |
| | Cefuroxima | <i>E. coli</i> (2.00) | IN | Yap et al., 2013 |
| | Meropeném | <i>E. coli</i> (0.75) | IN | Yap et al., 2013 |
| | Piperacilina | <i>E. coli</i> (0.50) | S | Yap et al., 2013 |

(Continua)

Tabela 2 – Continuação.

| Óleo essencial | Antibiótico | Microrganismo* | SE** | Referência |
|---|-------------------------|---------------------------------|-------------|---------------------|
| <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (Lauraceae) | Amicacina | <i>A. baumannii</i> (0.04) | S | Guerra et al., 2012 |
| | Gentamicina | <i>A. baumannii</i> (0.50) | AD | Guerra et al., 2012 |
| | Imipenem | <i>A. baumannii</i> (2.00) | IN | Guerra et al., 2012 |
| | Meropeném | <i>A. baumannii</i> (1.00) | IN | Guerra et al., 2012 |
| <i>Citrus limon</i> (Rutaceae) | Amicacina | <i>A. baumannii</i> (0.04) | S | Guerra et al., 2012 |
| | Gentamicina | <i>A. baumannii</i> (0.50) | AD | Guerra et al., 2012 |
| | Imipenem | <i>A. baumannii</i> (2.00) | IN | Guerra et al., 2012 |
| | Meropeném | <i>A. baumannii</i> (2.00) | IN | Guerra et al., 2012 |
| <i>Coriandrum sativum</i> (Apiaceae) | Cefoperazona | <i>A. baumannii</i> (0.75-1.00) | AD | Duarte et al., 2012 |
| | Ciprofloxacino | <i>A. baumannii</i> (0.28-0.38) | S | Duarte et al., 2012 |
| | Cloranfenicol | <i>A. baumannii</i> (0.05-0.31) | S | Duarte et al., 2012 |
| | Gentamicina | <i>A. baumannii</i> (0.25-0.38) | S | Duarte et al., 2012 |
| | Piperacilina | <i>A. baumannii</i> (0.63-1.00) | AD | Duarte et al., 2012 |
| | Tetraciclina | <i>A. baumannii</i> (0.19-0.31) | S | Duarte et al., 2012 |
| <i>Eucalyptus globulus</i> (Myrtaceae) | Ampicilina | <i>K. pneumoniae</i> (1.00) | AD | Salem et al., 2018 |
| | | <i>S. aureus</i> (0.53) | SP | |
| | Ampicilina | <i>S. aureus</i> (0.37) | S | Azzam, 2020 |
| | Ceftazidima | <i>P. aeruginosa</i> (0.75) | AD | Azzam, 2020 |
| | Ceftriaxona | <i>S. aureus</i> (0.21) | S | Azzam, 2020 |
| | Ciprofloxacino | <i>P. aeruginosa</i> (1.00) | AD | Azzam, 2020 |
| | Gentamicina | <i>P. aeruginosa</i> (0.96) | AD | Azzam, 2020 |
| Vancomicina | <i>S. aureus</i> (0.26) | S | Azzam, 2020 | |
| <i>Geophila repens</i> (Rubiaceae) | Ampicilina | <i>E. coli</i> (1.00) | AD | Rao et al., 2017 |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.38) | S | |

(Continua)

Tabela 2 – Continuação.

| Óleo essencial | Antibiótico | Microrganismo* | SE** | Referência | |
|---|--|-----------------------------|-----------------------|-------------------------------------|------------------|
| | Cloranfenicol | <i>B. subtilis</i> (0.38) | S | Rao et al., 2017 | |
| | | <i>E. coli</i> (0.50) | S | | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.38) | S | | |
| | | <i>S. aureus</i> (1.50) | IN | | |
| | Estreptomicina | <i>B. subtilis</i> (0.75) | AD | Rao et al., 2017 | |
| | | <i>E. coli</i> (0.13) | S | | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.38) | S | | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.38) | S | | |
| | Penicilina | <i>E. coli</i> (0.50) | S | Rao et al., 2017 | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.25) | S | | |
| | <i>Lavandula angustifolia</i> (Lamiaceae) | Ampicilina | <i>E. coli</i> (2.00) | IN | Yap et al., 2013 |
| | | Carbenicilina | <i>E. coli</i> (2.00) | IN | Yap et al., 2013 |
| Cefazolina | | <i>E. coli</i> (2.00) | IN | Yap et al., 2013 | |
| Ceftazidima | | <i>E. coli</i> (1.00) | IN | Yap et al., 2013 | |
| Cefuroxima | | <i>E. coli</i> (0.53) | IN | Yap et al., 2013 | |
| Enrofloxacino | | <i>E. coli</i> (0.22-1.00) | S / AD | Adaszyńska-skwirzyńska et al., 2021 | |
| Meropeném | | <i>E. coli</i> (1.50) | IN | Yap et al., 2013 | |
| Piperacilina | | <i>E. coli</i> (0.26) | S | Yap et al., 2013 | |
| <i>Matricaria recutita</i> (Asteraceae) | Ampicilina | <i>S. aureus</i> (0.37) | S | Göger et al., 2018 | |
| | Axetilcefuroxima | <i>E. coli</i> (0.75) | AD | Göger et al., 2018 | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.75) | AD | | |
| | Tetraciclina | <i>E. coli</i> (0.37) | S | Göger et al., 2018 | |
| <i>S. aureus</i> (0.26) | | S | | | |
| <i>Mallotus repandus</i> (Euphorbiaceae) | Estreptomicina | <i>B. subtilis</i> (0.27) | S | Zhang et al., 2021 | |
| | | <i>E. coli</i> (0.50) | S | | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.38) | S | | |

(Continua)

Tabela 2 – Continuação.

| Óleo essencial | Antibiótico | Microrganismo* | SE** | Referência | | |
|--|--------------|------------------------------|----------------------------|----------------------|----|---------------------|
| | | <i>S. aureus</i> (0.14) | S | | | |
| <i>Melaleuca alternifolia</i> (Myrtaceae) | Ampicilina | <i>E. coli</i> (0.75) | IN | Yap et al., 2013 | | |
| | Carbencilina | <i>E. coli</i> (0.56) | IN | Yap et al., 2013 | | |
| | Cefazolina | <i>E. coli</i> (1.50) | IN | Yap et al., 2013 | | |
| | Ceftazidima | <i>E. coli</i> (1.00) | IN | Yap et al., 2013 | | |
| | Cefuroxima | <i>E. coli</i> (1.50) | IN | Yap et al., 2013 | | |
| | Meropeném | <i>E. coli</i> (1.00) | IN | Yap et al., 2013 | | |
| | Piperacilina | <i>E. coli</i> (0.56) | IN | Yap et al., 2013 | | |
| <i>Melaleuca armillaris</i> (Myrtaceae) | Cloxacilina | <i>S. aureus</i> (0.36-1.12) | S / AD | Buldain et al., 2018 | | |
| <i>Mentha piperita</i> (Lamiaceae) | Ampicilina | <i>A. baumannii</i> (0.50) | S | Rosato et al., 2018 | | |
| | | <i>B. cereus</i> (0.46) | S | | | |
| | | <i>B. subtilis</i> (0.13) | S | | | |
| | | <i>E. faecalis</i> (0.46) | S | | | |
| | | <i>E. coli</i> (0.55) | S | | | |
| | | <i>K. pneumoniae</i> (0.50) | S | | | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.50) | S | | | |
| | Ampicilina | <i>S. aureus</i> (0.44-0.65) | S / AD | Yap et al., 2013 | | |
| | | <i>E. coli</i> (1.00) | IN | | | |
| | | Carbencilina | <i>E. coli</i> (0.75) | | IN | Yap et al., 2013 |
| | | Cefazolina | <i>E. coli</i> (2.00) | | IN | Yap et al., 2013 |
| | | Ceftazidima | <i>E. coli</i> (2.00) | | IN | Yap et al., 2013 |
| | | Cefuroxima | <i>E. coli</i> (0.56) | | IN | Yap et al., 2013 |
| | | Gentamicina | <i>A. baumannii</i> (0.46) | | S | Rosato et al., 2018 |
| <i>B. cereus</i> (0.08) | S | | | | | |
| <i>B. subtilis</i> (0.07) | S | | | | | |
| <i>E. faecalis</i> (0.32) | S | | | | | |

(Continua)

Tabela 2 – Continuação.

| Óleo essencial | Antibiótico | Microrganismo* | SE** | Referência |
|--|----------------|----------------------------------|--------|-----------------------|
| | | <i>E. coli</i> (0.43) | S | |
| | | <i>K. pneumoniae</i> (0.43) | S | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.08) | S | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.13-0.30) | S | |
| | Meropenem | <i>E. coli</i> (0.26) | S | Yap et al., 2013 |
| | Piperacilina | <i>E. coli</i> (0.31) | S | Yap et al., 2013 |
| <i>Ocimum basilicum</i> (Lamiaceae) | Ciprofloxacino | <i>P. aeruginosa</i> (0.09-1.03) | S / IN | Silva et al., 2016 |
| | | <i>S. aureus</i> (4.25) | AN | |
| | Imipenem | <i>P. aeruginosa</i> (0.06-0.75) | S / AD | Silva et al., 2016 |
| | | <i>S. aureus</i> (0.06) | S | |
| <i>Origanum majorana</i> (Lamiaceae) | Ampicilina | <i>E. coli</i> (0.63) | IN | Yap et al., 2013 |
| | Carbenicilina | <i>E. coli</i> (1.06) | IN | Yap et al., 2013 |
| | Cefazolina | <i>E. coli</i> (2.00) | IN | Yap et al., 2013 |
| | Ceftazidima | <i>E. coli</i> (2.00) | IN | Yap et al., 2013 |
| | Cefuroxima | <i>E. coli</i> (0.63) | IN | Yap et al., 2013 |
| | Meropeném | <i>E. coli</i> (1.00) | IN | Yap et al., 2013 |
| | Piperacilina | <i>E. coli</i> (0.75) | IN | Yap et al., 2013 |
| <i>Satureja kuzistanica</i> (Lamiaceae) | Gentamicina | <i>P. aeruginosa</i> (0.93-2.00) | IN | Islamieh et al., 2020 |
| | Norfloxacino | <i>P. aeruginosa</i> (0.32-1.83) | S / IN | Islamieh et al., 2020 |
| <i>Syzygium aromaticum</i> (Myrtaceae) | Ampicilina | >10 cepas (0.50) | S | Moon et al., 2011 |
| | Gentamicina | >10 cepas (0.38-0.75) | S / AD | Moon et al., 2011 |
| <i>Thymus broussonetii</i> (Lamiaceae) | Cefixima | <i>B. cereus</i> (0.50) | S | Fadli et al., 2012 |
| | | <i>B. subtilis</i> (1.00) | IN | |
| | | <i>E. cloacae</i> (1.00) | IN | |

(Continua)

Tabela 2 – Continuação.

| Óleo essencial | Antibiótico | Microrganismo* | SE** | Referência |
|----------------|----------------|------------------------------|------|--------------------|
| | | <i>E. coli</i> (0.50) | S | |
| | | <i>K. pneumoniae</i> (1.00) | IN | |
| | | <i>M. luteus</i> (1.00) | IN | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.50) | S | |
| | | <i>Salmonella sp.</i> (0.18) | S | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.50) | S | |
| | | <i>V. cholerae</i> (0.62) | SP | |
| | Ciprofloxacino | <i>B. cereus</i> (0.15) | S | Fadli et al., 2012 |
| | | <i>B. subtilis</i> (0.26) | S | |
| | | <i>E. cloacae</i> (0.50) | S | |
| | | <i>E. coli</i> (0.37) | S | |
| | | <i>K. pneumoniae</i> (0.62) | SP | |
| | | <i>M. luteus</i> (0.26) | S | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.14) | S | |
| | | <i>Salmonella sp.</i> (0.56) | SP | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.50) | S | |
| | | <i>V. cholerae</i> (0.14) | S | |
| | Gentamicina | <i>B. cereus</i> (0.12) | S | Fadli et al., 2012 |
| | | <i>B. subtilis</i> (0.09) | S | |
| | | <i>E. cloacae</i> (0.50) | S | |
| | | <i>E. coli</i> (0.37) | S | |
| | | <i>K. pneumoniae</i> (0.62) | SP | |
| | | <i>M. luteus</i> (0.12) | S | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.28) | S | |
| | | <i>Salmonella sp.</i> (0.62) | SP | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.50) | S | |
| | | <i>V. cholerae</i> (0.28) | S | |
| | Pristinamicina | <i>B. cereus</i> (0.37) | S | Fadli et al., 2012 |
| | | <i>B. subtilis</i> (0.37) | S | |
| | | <i>E. cloacae</i> (0.50) | S | |

(Continua)

Tabela 2 – Continuação.

| Óleo essencial | Antibiótico | Microrganismo* | SE** | Referência |
|--|---------------------------|------------------------------|------|-----------------------|
| | | <i>E. coli</i> (0.37) | S | |
| | | <i>K. pneumoniae</i> (0.50) | S | |
| | | <i>M. luteus</i> (0.31) | S | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.75) | SP | |
| | | <i>Salmonella sp.</i> (0.50) | S | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.50) | S | |
| | | <i>V. cholerae</i> (0.15) | S | |
| <i>Thymus dactyloides</i> (Lamiaceae) | Gentamicina | <i>E. coli</i> (0.50) | S | Petrović et al., 2017 |
| | | <i>K. pneumoniae</i> (0.12) | S | |
| | Vancomicina | <i>S. abony</i> (1.12) | IN | Petrović et al., 2017 |
| <i>S. aureus</i> (0.31) | | S | | |
| <i>Thymus maroccanus</i> (Lamiaceae) | Cefixima | <i>B. cereus</i> (0.75) | SP | Fadli et al., 2012 |
| | | <i>B. subtilis</i> (0.62) | SP | |
| | | <i>E. cloacae</i> (1.00) | IN | |
| | | <i>E. coli</i> (0.50) | S | |
| | | <i>K. pneumoniae</i> (1.00) | IN | |
| | | <i>M. luteus</i> (1.00) | IN | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.75) | SP | |
| | | <i>Salmonella sp.</i> (0.18) | S | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.18) | S | |
| | <i>V. cholerae</i> (0.31) | S | | |
| | Ciprofloxacino | <i>B. cereus</i> (0.15) | S | Fadli et al., 2012 |
| | | <i>B. subtilis</i> (0.09) | S | |
| | | <i>E. cloacae</i> (0.37) | S | |
| | | <i>E. coli</i> (0.12) | S | |
| | | <i>K. pneumoniae</i> (0.37) | S | |
| <i>M. luteus</i> (0.28) | | S | | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.15) | S | |

(Continua)

Tabela 2 – Conclusão.

| Óleo essencial | Antibiótico | Microrganismo* | SE** | Referência |
|----------------|----------------|------------------------------|------|--------------------|
| | | <i>Salmonella sp.</i> (0.37) | S | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.26) | S | |
| | | <i>V. cholerae</i> (0.14) | S | |
| | Gentamicina | <i>B. cereus</i> (0.25) | S | Fadli et al., 2012 |
| | | <i>B. subtilis</i> (0.50) | S | |
| | | <i>E. cloacae</i> (0.19) | S | |
| | | <i>E. coli</i> (0.28) | S | |
| | | <i>K. pneumoniae</i> (0.50) | S | |
| | | <i>M. luteus</i> (0.75) | SP | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.18) | S | |
| | | <i>Salmonella sp.</i> (0.75) | SP | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.50) | S | |
| | | <i>V. cholerae</i> (0.75) | SP | |
| | Pristinamicina | <i>B. cereus</i> (0.28) | S | Fadli et al., 2012 |
| | | <i>B. subtilis</i> (0.31) | S | |
| | | <i>E. cloacae</i> (0.50) | S | |
| | | <i>E. coli</i> (0.50) | S | |
| | | <i>K. pneumoniae</i> (0.50) | S | |
| | | <i>M. luteus</i> (0.25) | S | |
| | | <i>P. aeruginosa</i> (0.75) | SP | |
| | | <i>Salmonella sp.</i> (0.75) | SP | |
| | | <i>S. aureus</i> (0.62) | SP | |
| | | <i>V. cholerae</i> (0.62) | SP | |

*O número entre parênteses é o índice de concentração inibitória fracionada (ICIF).

** SE: Sinergia estabelecida.

As interações foram classificadas da seguinte forma: S – Sinérgica; SP – Sinergia parcial; AD – Aditiva; IN – Indiferente (não interativo); AN – Antagônica.

Também foi constatado que, apesar se ter sido mais estudada, os OEs da família Lamiaceae foram as únicas responsáveis pelos resultados antagônicos encontrados (Tabela 3).



Tabela 3 - Resultados de antagonismo obtidos a partir da utilização do método CKB.

| Família | Óleo essencial + Antibiótico | Espécie bacteriana | ICIF | Referências |
|-----------|------------------------------|--------------------|------|-------------------------|
| Lamiaceae | <i>C. glandulosa</i> + GEN | <i>E. coli</i> | 2.12 | Milenković et al., 2018 |
| | <i>C. nepeta</i> + GEN | <i>E. coli</i> | 2.12 | |
| | <i>C. sylvatica</i> + CIP | <i>S. aureus</i> | 2.17 | |
| | <i>C. sylvatica</i> + GEN | <i>E. coli</i> | 2.12 | |
| | <i>C. vardarensis</i> + CIP | <i>S. aureus</i> | 2.12 | |
| | <i>C. vardarensis</i> + GEN | <i>E. coli</i> | 2.12 | |
| | <i>O. basilicum</i> + CIP | <i>S. aureus</i> | 4.25 | Silva et al., 2016 |

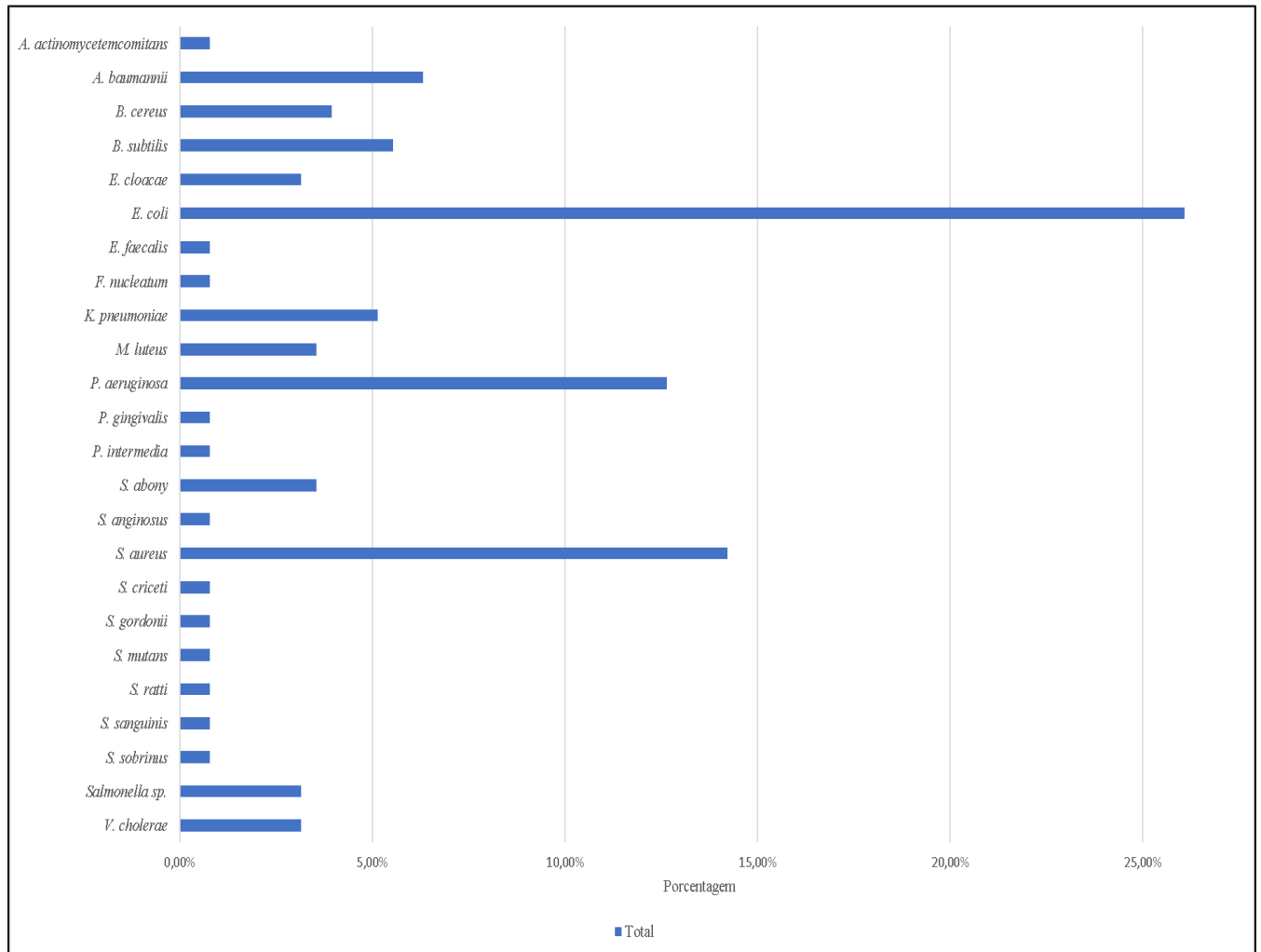
CIP, ciprofloxacino; GEN, gentamicina.

Entretanto, levando em consideração a classificação descrita por Salem e colaboradores (2018), um ICIF entre 0.5 e 0.75 não seria classificada como aditiva, mas sinérgica parcial. Outro ponto importante é que um ICIF de 2.12 não seria classificado como um efeito antagônico, mas indiferente.

A presença de pulegona, epóxido de cis-piperitona e óxido de piperitenona, nessas espécies de plantas do gênero *Calamintha*, acarreta em um alto efeito antibacteriano. Porém, os efeitos sinérgicos e antagônicos desses produtos químicos e componentes-traço também podem afetar a atividade antibacteriana dos OEs (MILENKOVIĆ; STOŠOVIĆ; SLAVKOVSKA, 2018).

Como é possível observar na Figura 3, entre todas as combinações feitas, as espécies bacterianas mais testadas foram *E. coli* (26,09 %), *S. aureus* (14,23%), *P. aeruginosa* (12,65%) e *A. baumannii* (6,32%). Diferentes antibióticos foram testados contra essas espécies bacterianas, conseqüentemente, notou-se que, a gentamicina, ciprofloxacino e a ampicilina se destacaram como sendo os antimicrobianos mais avaliados (Figura 4).

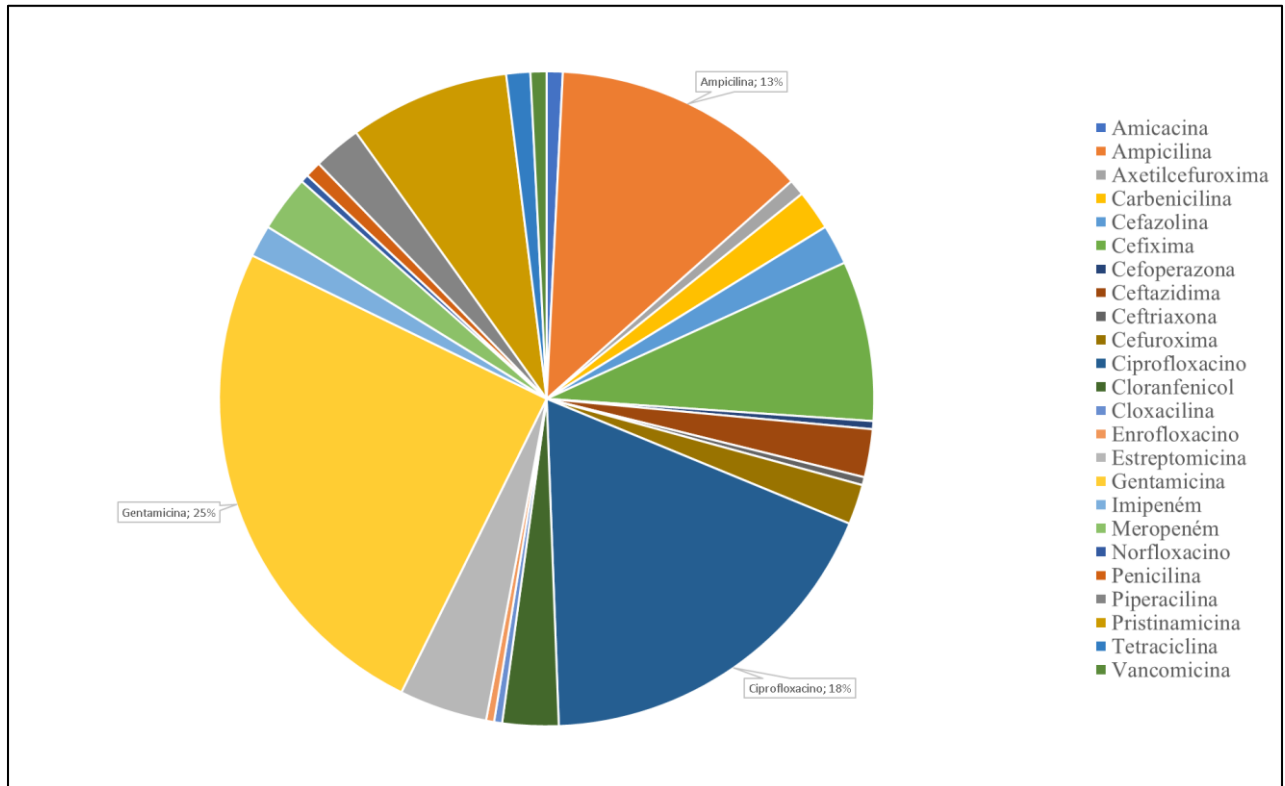
Figura 3 - Microrganismos mais testados nos ensaios de *cheackboard*.



Fonte: Dados da pesquisa.

No geral, muitos OEs apresentaram interações sinérgicas e, uma boa parte desses óleos são da família Lamiaceae e possuem terpenos e/ou terpenóides em sua composição, como por exemplo: *M. piperita* (ROSATO et al., 2018), *O. basilicum* (SILVA et al., 2016) e *T. maroccanus* (FADLI et al., 2012). Pode-se dizer que os terpenos são os compostos mais ativos contra bactérias, fungos e protozoários, e podem desempenhar um papel na desintegração de sua estrutura de membrana desses microrganismos (LIMA; CARDOSO, 2007).

Figura 4 – Relação dos antibióticos testados.



Fonte: Dados da pesquisa.

A tabela 4 mostra os resultados mais promissores encontrados, contra os microrganismos supracitados. Apesar de não terem sido tão explorados quanto os outros antimicrobianos, as combinações feitas com amicacina e imipenem foram capazes de obter os menores ICIFs. Resultados de grande significância, principalmente para bactérias gram-negativas, são particularmente interessantes visto que essas bactérias são difíceis de tratar com medicamentos antibacterianos comumente utilizados.

A membrana externa das bactérias gram-negativas possui uma forte carga negativa transmitida pelo lipopolissacarídeo, que está relacionada à composição lipídica e à carga superficial da membrana microbiana. Os monoterpenos contidos nos OEs conseguem

interagir com a membrana, e seus efeitos antibacterianos podem ser atribuídos ao dano sofrido pela membrana lipídica microbiana (ROSATO et al., 2018).

Tabela 4 - Melhores ICIFs encontrados para microrganismos mais estudados (*A. baumannii*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*).

| Óleo essencial | Antibiótico | Espécie bacteriana* | Referências |
|------------------------------|----------------|-----------------------------|---------------------|
| <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | Amicacina | <i>A. baumannii</i> (0.04) | Guerra et al., 2012 |
| <i>Citrus limon</i> | Amicacina | <i>A. baumannii</i> (0.04) | Guerra et al., 2012 |
| <i>Thymus maroccanus</i> | Ciprofloxacino | <i>E. coli</i> (0.12) | Fadli et al., 2012 |
| <i>Geophila repens</i> | Estreptomicina | <i>E. coli</i> (0.13) | Rao et al., 2017 |
| <i>Ocimum basilicum</i> | Ciprofloxacino | <i>P. aeruginosa</i> (0.09) | Silva et al., 2016 |
| <i>Mentha piperita</i> | Gentamicina | <i>P. aeruginosa</i> (0.08) | Rosato et al., 2018 |
| <i>Ocimum basilicum</i> | Imipenem | <i>P. aeruginosa</i> (0.06) | Silva et al., 2016 |
| <i>Mentha piperita</i> | Gentamicina | <i>S. aureus</i> (0.13) | Rosato et al., 2018 |
| <i>Ocimum basilicum</i> | Imipenem | <i>S. aureus</i> (0.06) | Silva et al., 2016 |

*O número entre parênteses é o índice de concentração inibitória fracionada (ICIF).

A relação sinérgica ou antagônica entre os antibióticos pode ser devido à competição por possíveis alvos primários. Por outro lado, pode haver efeito sinérgico de múltiplos alvos, envolvendo enzimas, substratos, metabólitos e proteínas, receptores, canais iônicos, transportadores, ribossomos, DNA/RNA e mecanismos físicos e químicos. Outra explicação pode ser que a interação entre diferentes compostos levará a mudanças na estrutura e conformação, e pode levar a uma diminuição na atividade inibitória. No entanto, sem pesquisas adicionais, é difícil esclarecer o mecanismo exato do efeito sinérgico (ROSATO et al., 2018).

4 CONCLUSÕES

Portanto, com a aplicação do método CKB, foi possível obter resultados promissores com relação a novas opções de tratamentos contra algumas doenças infecciosas. O uso combinado de óleos essenciais e antibióticos sintéticos demonstrou aumentar o efeito antimicrobiano, expandir o espectro antibacteriano, sendo capaz também de inibir a



resistência bacteriana. No entanto, ainda há inúmeros OEs não estudados em relação ao seu potencial de aumentar a eficácia de fármacos antimicrobianos.

No entanto, a fim de avaliar o potencial dessas combinações para aplicação terapêutica, estudos são necessários para explorar o modo de ação dos OEs e compreender os mecanismos moleculares de sua sinergia com vários medicamentos antibacterianos quimicamente relacionados.

REFERÊNCIAS

- ADASZYŃSKA-SKWIRZYŃSKA, M.; SZCZERBIŃSKA, D.; ZYCH, S. The use of lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil as an additive to drinking water for broiler chickens and its in vitro reaction with enrofloxacin. **Animals**, v. 11, n. 6, p. 1535, 1 jun. 2021.
- AZZAM, N. F. A. E. M. Antibacterial Effect of Eucalyptus Essential Oil. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 13, n. 07, p. 799–804, 2020.
- BASSOLÉ, I. H. N.; JULIANI, H. R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 3989–4006, 2012.
- BONAPACE, C. R. *et al.* Comparison of methods of interpretation of checkerboard synergy testing. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 44, n. 4, p. 363–366, 2002.
- BULDAIN, D. *et al.* Combination of cloxacillin and essential oil of *Melaleuca armillaris* as an alternative against *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, p. 177, 2 ago. 2018.
- CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils - Present Status and Future Perspectives. **Medicines**, v. 4, n. 3, p. 58, 2017.
- DELAQUIS, P. J. *et al.* Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, n. 1–2, p. 101–109, 25 mar. 2002.
- DUARTE, A. *et al.* Synergistic activity of coriander oil and conventional antibiotics against *Acinetobacter baumannii*. **Phytomedicine**, v. 19, n. 3–4, p. 236–238, 2012.
- EL ATKI, Y. *et al.* Antibacterial activity of cinnamon essential oils and their synergistic potential with antibiotics. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research**, v. 10, n. 2, p. 63–67, 2019.



FADLI, M. *et al.* Antibacterial activity of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* essential oils against nosocomial infection - Bacteria and their synergistic potential with antibiotics. **Phytomedicine**, v. 19, n. 5, p. 464–471, 2012.

GÖGER, G. *et al.* Antimicrobial and toxicity profiles evaluation of the Chamomile (*Matricaria recutita* L.) essential oil combination with standard antimicrobial agents. **Industrial Crops and Products**, v. 120, p. 279–285, 2018.

GUERRA, F. Q. S. *et al.* Increasing antibiotic activity against a multidrug-resistant *Acinetobacter* spp by essential oils of *Citrus limon* and *Cinnamomum zeylanicum*. **Natural Product Research**, v. 26, n. 23, p. 2235–2238, 2012.

ISLAMIEH, D. I. *et al.* Reduced efflux pumps expression of *Pseudomonas aeruginosa* with *Satureja khuzistanica* essential oil. **Iranian Journal of Medical Sciences**, v. 45, n. 6, p. 463–468, 1 nov. 2020.

KASRATI, A. *et al.* Essential oil composition and antimicrobial activity of wild and cultivated mint timija (*Mentha suaveolens* subsp. timija (Briq.) Harley), an endemic and threatened medicinal species in Morocco. **Natural Product Research**, v. 27, n. 12, p. 1119–1122, 2013.

LANGEVELD, W. T.; VELDHUIZEN, E. J. A.; BURT, S. A. Synergy between essential oil components and antibiotics: A review. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 76–94, 2014.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos**, v. 3, n. 3, p. 14–24, 2007.

MEDEIROS, M. **Avaliação in vitro e in vivo de Efeitos Sinérgicos de Antibacterianos para o Tratamento de Infecções por *Acinetobacter baumannii* Multirresistentes produtoras de Carbapenemases tipo OXA endêmicas no Brasil.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

MILENKOVIĆ, M.; STOŠOVIĆ, J.; SLAVKOVSKA, V. Synergy between essential oils of *calamintha* species (lamiaceae) and antibiotics. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 3, p. 371–374, 2018.

MOON, S. E.; KIM, H. Y.; CHA, J. D. Synergistic effect between clove oil and its major compounds and antibiotics against oral bacteria. **Archives of Oral Biology**, v. 56, n. 9, p. 907–916, 2011.

NAFIS, A. *et al.* Antioxidant activity and evidence for synergism of *Cannabis sativa* (L.)



essential oil with antimicrobial standards. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 396–400, 2019.

PETROVIĆ, S. *et al.* *Thymus dactylicus* as a new source of antioxidant and antimicrobial metabolites. **Journal of Functional Foods**, v. 28, p. 114–121, 2017.

RAO, H.; LAI, P.; GAO, Y. Chemical composition, antibacterial activity, and synergistic effects with conventional antibiotics and nitric oxide production inhibitory activity of essential oil from *Geophila repens* (L.) I.M. Johnston. **Molecules**, v. 22, n. 9, p. 1561, 17 set. 2017.

ROSATO, A. *et al.* Elucidation of the synergistic action of *Mentha Piperita* essential oil with common antimicrobials. **PLoS ONE**, v. 13, n. 8, p. e0200902, 2018.

ROZATTO, M. R. **DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA in vitro DE EXTRATOS, FRAÇÕES E COMPOSTOS ISOLADOS DE *Arrabidaea brachypoda***. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” campus de Araraquara, São Paulo, 2012.

SALEM, N. *et al.* Variation in chemical composition of *Eucalyptus globulus* essential oil under phenological stages and evidence synergism with antimicrobial standards. **Industrial Crops and Products**, v. 124, p. 115–125, 2018.

SILVA, V. A. *et al.* *Ocimum basilicum*: Antibacterial activity and association study with antibiotics against bacteria of clinical importance. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 5, p. 863–867, 3 maio 2016.

VAN VUUREN, S.; VILJOEN, A. Plant-based antimicrobial studies - Methods and approaches to study the interaction between natural products. **Planta Medica**, v. 77, n. 11, p. 1168–1182, 2011.

WHITE, R. L. *et al.* Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: Time-kill, checkerboard, and E test. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 40, n. 8, p. 1914–1918, 1996.

YAP, P. S. X. *et al.* Combination of essential oils and antibiotics reduce antibiotic resistance in plasmid-conferred multidrug resistant bacteria. **Phytomedicine**, v. 20, n. 8–9, p. 710–713, 2013.

ZHANG, X. C. *et al.* Chemical composition, and evaluation of antibacterial, antibiofilm and synergistic effects with conventional antibiotics of essential oil from *Mallotus repandus*. **Records of Natural Products**, v. 15, n. 4, p. 324–329, 2021.