



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

THAISY DE FÁTIMA OLIVEIRA DE ALMEIDA DANTAS

**ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE CONTRA *Pseudomonas aeruginosa*: UMA
REVISÃO INTEGRATIVA**

CUITÉ-PB

2018

THAISY DE FÁTIMA OLIVEIRA DE ALMEIDA DANTAS

**ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE CONTRA *Pseudomonas aeruginosa*: UMA
REVISÃO INTEGRATIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, *Campus Cuité*, como requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Egberto Santos Carmo

CUITÉ-PB

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Rosana Amâncio Pereira – CRB 15 – 791

D192o

Dantas, Thaisy de Fátima Oliveira de Almeida.

Óleos essenciais com atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*: uma revisão integrativa. / Thaisy de Fátima Oliveira de Almeida Dantas. – Cuité: CES, 2018.

65 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2018.

Orientador: Egberto Santos Carmo

1. *Pseudomonas aeruginosa*. 2. Óleo essencial. 3. Toxicidade. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 581.2

THAISY DE FÁTIMA OLIVEIRA DE ALMEIDA DANTAS

**ÓLEOS ESSENCIAIS COM ATIVIDADE CONTRA *Pseudomonas aeruginosa*: UMA
REVISÃO INTEGRATIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, *Campus Cuité*, como requisito para a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: ____ de _____ de _____

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr. Egberto Santos Carmo

Orientador – UFCG

Prof^a. Dr^a. Francinalva Dantas de Medeiros

Banca Examinadora – UFCG

Suplente: Prof^a. Dr^a. Júlia Beatriz Pereira de Souza

Prof^a. Dr^a. Maria Emília da Silva Menezes

Banca Examinadora – UFCG

Suplente: Prof^a. Dr^a. Flávia Negromonte Souto Maior

*Aos meus pais, **Maria** e **Rilson**, estes que sempre foram meu alicerce, que estiveram presentes nos momentos mais fáceis e difíceis, por nunca terem medido esforços para me proporcionar a melhor educação possível. Sou muito grata a Deus por vocês existirem.*

A vocês dedico!

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar quero agradecer a Deus, pelo simples dom da vida que me destes, por sempre estar comigo nos momentos mais difíceis, e nunca deixar-me desistir, mostrando que sempre posso superar-me com todos os obstáculos.

Aos meus amados pais, Rilson Dantas e Maria do Socorro. A vocês agradeço tudo que conquistei até o presado momento, muito obrigada por nunca desamparar-me e mostrar-me que com persistência posso conquistar tudo que almejo. Vocês me mostram a cada dia com os seus atos o simples significado de amar, sempre se esforçam muito para dar-me a melhor educação, posso garantir com tudo que tenho, que se hoje esse sonho está se tornando real, é graças a vocês, essa conquista pertence mais a vocês do que a mim. Eu tenho orgulho de ser filha de vocês.

Aos meus irmãos Francisco Tadeu e Yasmim de Oliveira, que sempre apoiaram meus sonhos, que torcem pelas minhas conquistas como se fossem suas. Irmãos eu amo vocês.

Aos meus familiares, em especial a minha avó Francisca Gomes, por sempre ser presente em minha vida, por me proporcionar tanto amor e calma, por suas incontáveis orações, como diz a senhora, “rezando para você realizar uma boa prova”, suas orações também me ajuda a superar todos os meus medos vó Chica. A Senhora é muito importante em minha vida, eu te amo incondicionalmente.

Ao meu tio “*in memoriam*” Francisco Filho (Turuca), enquanto vivo sempre acreditou nessa conquista, sei o quanto queria está presente nesse momento, mas infelizmente o destino não foi tão amigável conosco, mas sei meu tio que onde o senhor esteja está muito feliz por mim. Eu te amo e passe o tempo que passar eu nunca te esquecerei. O Senhor está comigo em todo lugar que eu vá.

As minhas primas Rychelle Ruanny, Jéssica de Almeida e Roselle Varelo. Eu sou muito grata por ter vocês em minha vida, amo vocês.

A minha turma, em especial à Samara Patrício, Tássia Mathias, Vanízia Mara, Ericlebson Lima e Kaltz Victor. Sou muito grata por ter conhecido cada um de vocês, levarei da universidade para a vida.

A minha amiga Dayanne Feitosa, quantas coisas nós dividimos naquela casinha amarela, ou melhor, *yellow house*, quantas brigas e sorrisos. Meu dilema era acreditar que nossa convivência não iria dar certo, mas como o destino surpreende, mostrou-nos que devemos apostar no improvável para tudo valer a pena, e como valeu a pena. Obrigada por ser quem você é, duas palavras resume meus sentimentos por você, carinho e amor.

A minha amiga Yamma Klívia, agradeço por tudo que já dividimos juntas, tantas alegrias e choros compartilhados. Só nós duas sabemos o quanto essa graduação foi dura conosco, mas o mais importante era/é saber que tínhamos/temos uma à outra para superarmos juntas cada obstáculo. Você é uma pessoa muito especial na minha vida, eu amo você.

Aos meus caros amigos que posso também chamar de irmãos, que essa universidade proporcionou-me, em especial à Gessyca Isbelo, Anna Paula, Fernando Azevedo, Yuri Alexandre, Yáscara Maia e Priscila Almeida. As minhas companheiras e irmãs que dividiram moradia comigo Ana Gilza, Roselle Varelo e Karoll Moangella. Obrigada a cada um de vocês, por terem tornado essa caminhada mais prazerosa, sou grata pela amizade de vocês, minha família longe de casa, posso garantir que levarei vocês da universidade para a vida, obrigada por cada momento compartilhado, por cada noite em claro estudando juntos ou resenhando sobre a vida, por cada abraço, carinho e brigas compartilhadas. Amo vocês.

Ao meu orientador professor Dr. Egberto Santos Carmo, obrigada por toda dedicação e orientação. Sempre repassando todos seus conhecimentos da melhor forma possível, sou muito grata ao senhor.

A todos os meus professores, obrigada por toda educação e dedicação passada, sem vocês somos apenas um na multidão, com vocês nos tornamos mais um destaque que com nossas profissões tornaremos esse país um lugar melhor.

Enfim a todos que contribuíram da melhor forma possível para essa conquista, meu muito amor e obrigado.

*Se te dizem que não irá dar certo, não se importe,
simplesmente siga seu coração, faça, orgulhe-se
e ame muito.*

(Própria Autora)

LISTA DE IMAGENS

Figura 1: Aspecto microscópico das bactérias Gram-positivas.....	16
Figura 2: Aspecto microscópico das bactérias Gram-negativas.....	16
Figura 3: Aspecto microscópico da <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
Figura 4: Meio Cetrimida Agar Base com a presença de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
Figura 5: Otite externa causada por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
Figura 6: Ectima gangrenoso causada por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
Figura 7: Colônias de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> no meio Tryptic Soy Agar (TSA).....	21
Figura 8: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> no meio Ágar MacConkey.....	21
Figura 9: Colônias de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> no meio Ágar Sangue.....	21
Figura 10: Bancos de dados e descritores utilizados.....	26
Figura 11: Metodologia de inclusão.....	26
Figura 12: <i>Origanum vulgare</i> L. (Orégano).....	31
Figura 13: <i>Aloysia gratíssima</i> (Alfazema-do-brasil).....	32
Figura 14: <i>Myracrodruon urundeuva</i> (Aroeira-do-sertão).....	33
Figura 15: <i>Caryophyllus aromaticus</i> L (Cravo-da-índia).....	34
Figura 16: <i>Cymbopogon winterianus</i> (Citronela).....	35
Figura 17: <i>Cymbopogon nardus</i> (Capim-citronela).....	36
Figura 18: <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (Caneleira-verdadeira).....	37
Figura 19: <i>Cinnamomum cassia</i> (Canela-chinesa).....	38
Figura 20: <i>Zingiber officinale</i> (Gengibre).....	39
Figura 21: <i>Eucalyptus paniculata</i> (Eucalipto).....	40
Figura 22: Estrutura química do eugenol.....	43
Figura 23: Rota metabólica dos fenilpropanóides.....	43

LISTA DE TABELAS E QUDROS

Tabela 1: Estratégia de Busca Eletrônica.....	28
Quadro 1: Óleos essenciais com ação inibitória contra a <i>P. aeruginosa</i> , com seus compostos majoritários e respectivas Concentrações inibitória mínimas (CIM).....	30
Quadro 2: Atividade antibacteriana de acordo com Aligiannis et al. (2001).....	42
Quadro 3: Óleos essenciais com ação frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e seus respectivos testes de toxicidades e citotoxicidades, encontrados na literatura.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AIM - Australian Imipenemase
- ANVISA - Agência nacional de vigilância sanitária
- ATP - Adenosina trifosfato
- CIM - Concentração inibitória mínima
- CL₅₀ - Concentração letal 50%
- CN Agar - Ceftriaxona Agar Base
- DIM - Dutch imipenemase
- DL₅₀ - Dose letal 50%
- et al. - e colaboradores
- GIM - Enzima do tipo MBL (German Imipenemase)
- IC₅₀ - Índice de citotoxicidade 50%
- IMP - Imipenem
- KHM - Health science metallo-beta-lactamase
- MBLs - Metallobetalactamases
- MexAB-*orpM* - Multidrug efflux pump
- mg - miligrama
- mL - mililitros
- mm - milímetros
- NADH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida
- NDM - New Delhi metallo-beta-lactamase
- OE - Óleo essencial
- OMP - Outer Membrane Protein
- OprC - Gene codificador de porina OprC
- OprD - Gene codificador de porina OprD
- OprE - Gene codificador de porina OprE

OprF - Gene codificador de porina OprF

O. vulgare - *Origanum vulgare*

P. aeruginosa - *Pseudomonas aeruginosa*

RJ - Rio de Janeiro

SENTRY - Antimicrobial Resistance Surveillance Program

SIM - Enzima do tipo MBL (Seoul Imipenemase)

SPM - Enzima do tipo MBL (São Paulo Metallo-beta-lactamase)

TSA - Tryptic Soy Agar

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

VIM - Enzima do tipo MBL (Verona Integron-encoded Metallo-beta-lactamase)

β -lactâmicos - Beta lactâmicos

μg - micrograma

μm - micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS	15
2.1 Geral	15
2.2 Específicos	15
3 REFERÊNCIAL TEÓRICO	16
4 METODOLOGIA.....	25
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1 Toxicidade	44
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	56
REFERÊNCIAS	57

RESUMO

A *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa, encontrada no solo, água, plantas e no homem. Como oportunista é considerada um importante patógeno humano, visto que só infecta pacientes com a saúde comprometida. Dentre os principais focos de infecção destacam-se o trato urinário, respiratório e pele/tecido. Quanto ao tratamento dessas infecções, alguns antibióticos são geralmente utilizados como os carbapenêmicos, polimixinas e fluoroquinolonas, embora essa bactéria apresente resistência a vários antibióticos, incluindo os próprios citados. Diante do crescente número de cepas bacterianas resistentes e do limitado arsenal terapêutico existente, buscou-se neste trabalho fazer uma revisão integrativa, pesquisando na literatura quais óleos essenciais apresentam ação anti-*Pseudomonas aeruginosa*, dessa forma contribuindo para o processo de avaliação de prováveis novo(s) antibacteriano(s). Essa pesquisa foi realizada através dos bancos de dados BVS, MEDLINE, SciELO, PubMed, Redalyc, LILACS e Google Scholar, buscando trabalhos científicos publicados no período de 10 anos (2008-2018). Para realiza-la fez-se necessário o uso de descritores, sendo estes: *Pseudomonas aeruginosa*, óleos essenciais, toxicidade, suas combinações na língua inglesa, espanhola e o uso do booleano AND. O trabalho apresenta os óleos essenciais que mostraram ação inibitória contra a *Pseudomonas aeruginosa*, baseando-se em estudos *in vitro*, sendo estes originários de: *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare* L., *Zingiber officinale*, *Aloysia gratissima*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Caryophyllus aromaticus* L., *Cinnamomum cassia*, *Eucalyptus paniculada* e *Myracrodruon urundeuva*. No teste de toxicidade os óleos de *O. vulgare* L. e *C. zeylanicum* apresentaram baixa toxicidade, enquanto os óleos de *C. aromaticus* L., *C. nardus*, *M. urundeuva*, *C. winterianus* e *Z. officinale* mostraram-se serem tóxicos nas concentrações analisadas. Não se encontrou estudos na literatura relatando a toxicidade dos óleos essenciais da *A. gratissima*, *C. cassia* e *E. paniculada*. Nenhum estudo clínico para os óleos essenciais versus *P. aeruginosa* foi encontrado na pesquisa. O óleo essencial de *C. zeylanicum* mostrou-se com a melhor ação anti-*Pseudomonas* assim como baixa toxicidade, diante disso é o que mais se aproxima de um potencial candidato a novo antibacteriano, especialmente para infecções causadas por *P. aeruginosa*. Entretanto fazem-se necessários mais estudos toxicológicos e clínicos envolvendo esse tema, visto que não foram encontrados ensaios clínicos desses óleos na literatura, para garantir a segurança dos mesmos.

Palavras-Chave: *Pseudomonas aeruginosa*; Óleo essencial; Toxicidade.

ABSTRACT

The *Pseudomonas aeruginosa* is a Gram-negative bacterium found in soil, water, plants and humans. As an opportunist, it is considered an important human pathogen, since it only infects patients with compromised health. Among the main foci of infection are the urinary tract, respiratory tract and skin/tissue. As for treatment of these infections, some antibiotics are generally used as the carbapenems, polymyxins and fluoroquinolones, although this bacterium shows resistance to several antibiotics, including the ones mentioned above. In view of the increasing number of resistant bacterial strains and the limited therapeutic arsenal available, this work aimed to make an integrative review, investigating in the literature which essential oils present anti-*Pseudomonas aeruginosa* action, thus contributing to the process of evaluation of probable new antibacterial(s). This research was carried out through the databases BVS, MEDLINE, SciELO, PubMed, Redalyc, LILACS and Google Scholar, searching scientific papers published in the period of 10 years (2008-2018). To do this it was necessary to use descriptors, such as: *Pseudomonas aeruginosa*, essential oils, toxicity, combinations in the English language, Spanish and the use of Boolean AND. The present work the essential oils that showed an inhibitory action against *Pseudomonas aeruginosa*, based on *in vitro* studies, originating from: *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare* L., *Zingiber officinale*, *Aloysia gratissima*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Caryophyllus aromaticus* L., *Cinnamomum cassia*, *Eucalyptus Paniculate* and *Myracrodruon urundeuva*. In the toxicity test, the oils of *O. vulgare* L. and *C. zeylanicum* presented low toxicity, whereas the oils of *C. aromaticus* L., *C. nardus*, *M. urundeuva*, *C. winterianus* and *Z. officinale* were toxic at the concentrations analyzed. No studies were found in the literature reporting the toxicity of the essential oils of *A. gratissima*, *C. cassia* and *E. Paniculate*. No clinical study for essential oils versus *P. aeruginosa* was found in the study. The essential oil of *C. zeylanicum* was shown to have the best anti-*Pseudomonas* action as well as low toxicity, which is the closest to a potential candidate for a new antibacterial, especially for infections caused by *P. aeruginosa*. However, further toxicological and clinical studies involving this subject are necessary, since no clinical trials of these oils have been found in the literature to guarantee their safety.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*; Essential oil; Toxicity.

1 INTRODUÇÃO

A *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa que apresenta distribuição cosmopolita, podendo ser isolada do solo, água, plantas, animais e humanos, sendo considerado o mais importante patógeno humano do gênero *Pseudomonas*, atuando como importante agente de infecção oportunista em indivíduos imunodeprimidos. Clinicamente está associada a várias infecções, como do trato respiratório, urinário, corrente sanguínea, sítio cirúrgico e pele/tecidos moles (MOUTINHO, 2013).

O tratamento de pacientes com infecção por *P. aeruginosa*, depende primordialmente do resultado do teste de antibiograma, devido à resistência que esta bactéria apresenta a muitos antibióticos. Entre as opções terapêuticas destacam-se a polimixina B e norfloxacin. Outras opções para se obter uma melhor farmacoterapia é a combinação/sinergismo de antibióticos, como por exemplo, associação de piperacilina com tazobactam (MELO; DUARTE; SOARES, 2012).

Um problema crítico relacionado à terapia clínica das infecções causadas por *P. aeruginosa* é a alta resistência que esses agentes adquirem durante o contato com alguns antimicrobianos sintéticos, isso se dá pelos múltiplos mecanismos de resistência que essas bactérias possuem, sendo esses: as alterações no sítio alvo, enzimas modificadoras de aminoglicosídeos, super expressão de bombas de efluxo e perda de porina. Essa resistência pode ser intrínseca ou adquirida. Um dos mecanismos de resistência de maior relevância na atualidade são as metalobetalactamases (MBLs), as quais são enzimas produzidas pela *P. aeruginosa* que desencadeia resistência a todos os β -lactâmicos incluindo a piperacilina/tazobactam, imipenem, meropenem, aminoglicosídeos e fluorquinolonas (GUPTA, 2008; NEVES et al., 2011 ; TURANO, 2012; GRILLO et al., 2013).

Diante do apresentado, percebe-se a necessidade de investimentos em pesquisas, visando à descoberta de substâncias com ação antimicrobiana, especialmente contra a *P. aeruginosa*. Nesse âmbito, os óleos essenciais, que são metabólitos secundários de plantas, representando um forte potencial por suas propriedades biológicas com efeitos antivirais, antimicrobianos, antifúngicos, inseticidas, dentre outros, estes que vem sendo estudados ao longo dos anos (MORAIS, 2009; SILVA, 2010).

Dentro desse contexto, faz-se necessário pesquisar através da literatura científica nos últimos dez anos, sobre óleos essenciais que tenham atividade antimicrobiana contra *P. aeruginosa*.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral:

- ✓ Realizar uma revisão integrativa sobre os óleos essenciais com atividade anti-*Pseudomonas aeruginosa*.

2.2 Específicos:

- ✓ Averiguar quais óleos essenciais apresenta atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*, baseando-se nos valores de concentração inibitória mínima (CIM);
- ✓ analisar o perfil de toxicidade dos óleos que demonstraram sua eficácia e
- ✓ investigar se existem óleos essenciais que tenham estudos clínicos demonstrando sua efetividade e segurança.

3 REFERÊNCIA TEÓRICO

As bactérias são seres unicelulares, procariontes, aeróbicos (sua existência depende do ar), anaeróbicas (sua existência não depende do ar) ou anaeróbicos facultativos. Sendo encontradas nos mais variados ambientes e seres vivos do planeta terra, na sua forma isolada ou em colônias. Muitas bactérias fazem parte da microbiota normal dos seres humanos, vivendo saprofiticamente e, sob certas condições, como a imunossupressão, são capazes de desencadear doenças (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2010; ALVES et al., 2010).

Morfologicamente são encontradas na forma de cocos, bastões e espirilos. As características da parede bacteriana permitem diferenciá-las em dois grupos específicos, esses sendo das bactérias Gram-negativas e os das bactérias Gram-positivas, apresentadas nas figuras 1 e 2. Essa parede por sua vez tem total importância para diferenciar os dois tipos de bactérias. As paredes das bactérias Gram-positivas são compostas por uma densa camada de peptidoglicano, à medida que nas bactérias Gram-negativas a camada de peptidoglicano é bastante delgada, porém, a estrutura da parede no ponto de vista químico é bem mais complexa em relação à das Gram-positivas (MOREIRA; CARVALHO; FROTA, 2015).

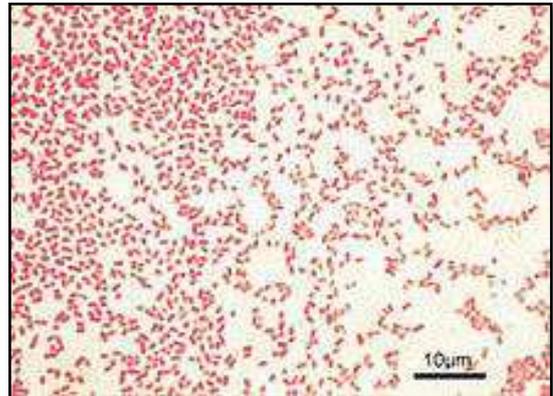
Figura 1: Aspecto microscópico das Bactérias Gram-positivas.



Fonte:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/ae/Bacteria_photomicrograph.jpg. Acesso em 10 de maio de 2018.

Figura 2: Aspecto microscópico das Bactérias Gram-negativas.



Fonte:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/2d/Pseudomonas_aeruginosa_Gram.jpg/220px-Pseudomonas_aeruginosa_Gram.jpg. Acesso em 10 de maio de 2018.

Dentre essas bactérias se destaca a espécie *Pseudomonas aeruginosa*, um bacilo Gram-negativo não fermentador que faz parte da família Pseudomonadaceae, dispõe de

flagelos polares onde estes são responsáveis pela sua motilidade. Sua morfologia de bastonetes varia de ligeiramente curvos a retos, com tamanho de 0,5 a 1,0 μm de largura e 1,5 a 5,0 μm de comprimento. São bactérias de um habitat vasto, encontradas isoladas do solo, água, plantas, animais, assim como em seres humanos, estando presente na microbiota normal (da pele, intestino grosso e sistema urogenital) (PIRES, 2009; MOUTINHO, 2013).

São patogênicas, frequentemente ligadas as infecções nosocomiais, isto é, infecções que são adquiridas por uma estadia em hospitais. Dentro desse contexto estão associadas diretamente a um elevado grau de morbidade e mortalidade em pacientes hospitalizados (MARQUIS; SANTON; O'TOOLE, 2008; STRATEVA; YORDANOV, 2009).

Microscopicamente são observadas através da coloração de Gram, como apresentado na figura 3. Esta que é obtida pelo método descoberto pelo médico dinamarquês Hans Christian Joachim Gram, em que as bactérias Gram-positivas se coram com a cor azul, enquanto as bactérias Gram-negativas adquirem uma coloração vermelha. Isso se dá pelo uso de corantes e solventes utilizados no ato da coloração, o cristal de violeta, que dá um aspecto as células de azul púrpura; solução de iodo, que forma um complexo violeta-iodo; os solventes orgânicos como acetona ou etanol, que tem a função de remover a cor azul das paredes das bactérias, nesse caso por serem dotadas de uma parede fina e rica em lipídios as Gram-negativas perdem a cor azul ficando incolor, enquanto as Gram-positivas por serem dotadas de uma parede mais espessa e pobre em lipídios permanecem com a coloração azul; e o corante vermelho safranina que cora as Gram-negativas de vermelho, isso se dá pelo fato dessas estarem incolores, assim tornando-se susceptíveis a essa coloração, enquanto que as Gram-positivas permanecem com a coloração azul (LEVINSON, 2016).

Figura 3: Aspecto microscópico da *Pseudomonas aeruginosa*.

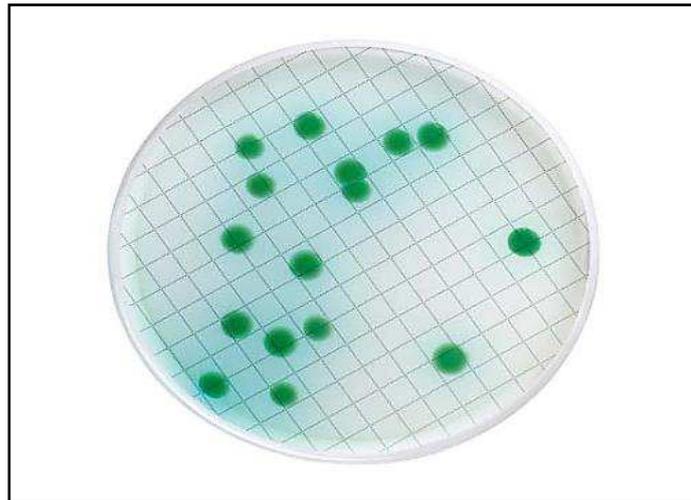


Fonte:

<http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>. Acesso em 10 de maio de 2018.

A *Pseudomonas aeruginosa* desenvolve-se na maioria dos meios comuns de cultura encontrados no laboratório, porém o melhor meio de cultura utilizado para o seu isolamento seletivo é o meio Cetrimida Agar Base, rotineiramente chamado de CN Agar, vista na figura 4 (MOUTINHO, 2013).

Figura 4: Meio Cetrimida Agar Base com a presença da *Pseudomonas aeruginosa*.



Fonte: <https://axel.as-1.co.jp/asone/d/61-0201-40/>.
Acesso em 10 de maio de 2018.

Essa bactéria é considerada um patógeno oportunista, dessa maneira estando diretamente ligada no desenvolvimento de diversas infecções, como a otite externa, observada na figura 5. Porém não corresponde a um problema direto a pessoas saudáveis. Sendo responsáveis na maioria das vezes, por desencadear uma série de infecções em pessoas imunocomprometidas (CARVALHO, 2011).

Figura 5: Otite externa (frequentemente causada por *Pseudomonas aeruginosa*).



Fonte:
<http://microbiologiafsg.blogspot.com.br/p/tipos-mais-comuns-de-infeccao.html>. Acesso em 10 de maio de 2018.

É um agente patogênico que está diretamente ligado à incidência de doenças infecciosas em hospitais em todo mundo, se tornando importante seu estudo científico e tratamento, por acarretar em uma alta morbidade e mortalidade nesse ambiente. Sendo desencadeadoras de infecções urinárias dadas ao uso do cateter vesical, infecções operatórias, pneumonias ligadas à ventilação mecânica, bacteremias ligadas ao uso do cateter vascular e as infecções na pele/tecidos moles nessa última desencadeada pelo seu comprometimento, dessa maneira se tornando uma porta de entrada para essa bactéria, apresentado na figura 6. Na perspectiva microbiológica, as infecções por *P. aeruginosa* ocorrem devido a sua alta capacidade invasiva e toxigênica, a partir da adesão e colonização do organismo hospedeiro, invadindo e assim disseminando-se, posteriormente desencadeando uma doença sistêmica (REMPEL; TIZZOT; VASCO, 2011).

Figura 6: Ectima gangrenoso (manifestação cutânea causada por *Pseudomonas*)



Fonte:

http://www.spmi.pt/20congresso/resumos_aceites_consulta.php?id=IMI-02-41. Acesso em 10 de maio de 2018.

Segundo dados obtidos pelo SENTRY (Antimicrobial Resistance Surveillance Program) a incidência de *P. aeruginosa* causadoras de infecções no mundo todo, em um estudo resultantes de 70.067 amostras de cinco diferentes regiões do globo, analisou-se que a ocorrência dessas infecções pela *P. aeruginosa* era mais alta na América latina e Ásia (11,4%), Europa (9,3%), Estados Unidos (8,7%) e por fim Canadá (8,6%) (ABEGG; SILVA, 2011).

No Brasil, dados provenientes também da SENTRY no período de 2008 a 2010, em relação às infecções hospitalares, a *P. aeruginosa* foi o agente diretamente ligado à alta frequência de pneumonias hospitalares, como também o segundo responsável por infecções de feridas e o terceiro mais frequente em infecções da corrente sanguínea (GALES et al., 2012).

No estado da Paraíba, sobre um estudo da epidemiologia de infecções hospitalares em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI) no hospital público do município de João Pessoa, analisou que as infecções mais comuns foram às infecções primária da corrente sanguínea (38,59%), pneumonia referente à ventilação mecânica (36,84%) e infecção do trato urinário (21,05%). Dentro desse contexto foi analisado que dos microrganismos responsáveis por essas infecções, a *P. aeruginosa* foi o principal patógeno com uma prevalência de 31,48% em relação aos outros microrganismos. Sendo assim nesse âmbito, esse agente foi responsável por 16% dos casos de pneumonia, assim como 12% do trato urinário e 10% das infecções que acometem a corrente sanguínea (FIGUEIREDO; VIANNA; NASCIMENTO, 2013).

O diagnóstico para identificação da *P. aeruginosa* é realizado a partir da coleta de amostra dos pacientes, que estejam com algum processo infeccioso, como amostras de urina, escarro, secreções cirúrgicas e lesões cutâneas, líquido cefalorraquidiano, sangue e entre outros. Utilizando-se então dessas amostras para serem realizados os exames laboratoriais, pela preparação de esfregaços dessas amostras com swab ou alça de níquel cromo no meio de cultura (MOUTINHO, 2013).

A *Pseudomonas aeruginosa* cresce na maioria dos meios de cultura, como por exemplo, Ágar Sangue, Ágar MacConkey, Ágar Cetrimide e Tryptic Soy Agar (TSA), assim como podemos observa-las nas figuras 7, 8 e 9. Essa bactéria nesses meios apresenta colônias redondas e lisas com uma coloração esverdeada fluorescente (decorrente da produção de pioverdina), coloração azul (decorrente da produção de piocianina) e hemólise (ocorre quando semeada em Ágar Sangue). A *P. aeruginosa* detém um odor característico quando cresce nesses meios, um cheiro adocicado que se assemelha a uvas estragadas (WINN et al., 2008; MOUTINHO, 2013).

O tratamento utilizado para combater infecções causadas pela *P. aeruginosa* é bem restrito, sendo necessário a realização de teste antibiograma, normalmente no hospital onde o paciente está internado, para indicar melhor tratamento. Habitualmente faz-se o uso de antibióticos como monobactâmico, carbapenêmicos, e fluoroquinolonas, particularmente a ciprofloxacina. Porém o melhor tratamento baseia-se na combinação ou sinergismo de antibióticos de diversas classes, incluindo penicilinas que apresentam atividade

antipseudomonas (piperacilina + tazobactam) e cefalosporinas de amplo espectro associado com beta-lactâmicos (cefepima + aztreonam). Em relação a alguns casos que apresenta multirresistentes, dentre esses os carbapenêmicos, a única solução terapêutica disponível são as polimixinas sendo essas a colistina e a polimixina B. Evidenciando que apesar de determinados fármacos tem boa atividade contra a *P. aeruginosa*, não podem ser consideradas uma terapia 100% eficaz contra a mesma (TURANO, 2012; MELO; DUARTE; SOARES, 2012; TAMMA; COSGROVE; MARAGAKIS, 2012).

Figura 7: Colônias de *Pseudomonas aeruginosa* no meio Tryptic Soy Agar (TSA).



Fonte:

<https://www.biomedicinapadrao.com.br/2011/11/guia-meios-de-cultura-para-bacterias.html>. Acesso em 10 de maio de

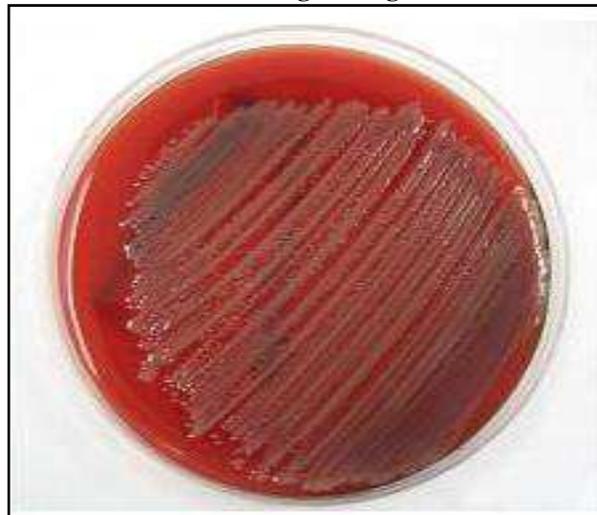
Figura 8: *Pseudomonas aeruginosa* no meio Ágar MacConkey.



Fonte:

<http://biomedicinaemicro.blogspot.com.br/p/culturas-bacterianas.html>. Acesso em 10 de maio de 2018.

Figura 9: Colônias de *Pseudomonas aeruginosa* no meio Ágar Sangue.



Fonte: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAgEjIAE/pseudomonas-acinetobacter-baumannii>. Acesso em 10 de maio de 2018.

A *Pseudomonas aeruginosa* apresentam um elevado grau de resistência à maioria dos antibióticos, essa resistência pode ser desenvolvida por fatores intrínsecos ou adquirida, onde a resistência intrínseca ocorre através de uma característica própria do próprio grupo da bactéria, enquanto a resistência adquirida desencadeia-se por meio de um processo que a bactéria desenvolve genes de resistência através de uma transferência genética ou até mesmo uma mutação nos seus genes, a um antibiótico ao qual era até então sensível (POLLOTO, 2010).

Esse patógeno segundo estudos da SENTRY possui resistência a piperacilina, ceftazidima, imipenem, gentamicina, a todos os β -lactâmicos - incluindo imipenem, meropenem, aminoglicosídeos e fluorquinolonas (HIRSCH; TAM, 2010).

Isso é decorrente aos vários mecanismos de resistência desenvolvidos por esse patógeno, como a perda de porinas, que corresponde a um mecanismo que controla a entrada de substâncias no interior da bactéria, chamada também como OMP (outer membrane protein), seu mecanismo baseia-se em formar canais compostos de água no seu interior, possibilitando dessa forma na difusão passiva de solutos hidrofílicos por meio da membrana externa. A *P. aeruginosa* possuem na sua membrana externa tais porinas: OprC, OprD, OprE e OprF esta última sendo a mais prevalente, os β -lactâmicos na sua maioria são difundido por essa porina. A OprD está ligado a resistências aos carbapênimicos, particularmente o imipenem. Outro mecanismo de resistência importante é a produção da enzima Metallo-beta-lactamases (MBL) essa que é a mais notificada nos hospitais brasileiros, as MBLs são carbapenemases que fazem parte da classe B de Ambler, são capazes de produzirem resistência às cefalosporinas, penicilinas e carbapenêmicos, além de não serem impedidas pelas β -lactamases, assim sendo, elas degradam todos os β -lactâmicos, como o tazobactam, clavulanato e sulbactam, exceto o aztreonam. As subclasses dessa enzima são: IMP, VIM, SPM, GIM, SIM, AIM, KHM, NDM e DIM (GALETTI, 2010; TEIXEIRA, 2011).

As bombas de efluxo também correspondem a um mecanismo de resistência dessa bactéria. Se formam na membrana celular da *Pseudomonas aeruginosa*, possibilitando assim o surgimento de canais, que por meio desses os antibióticos são eliminados da célula, sendo a mais conhecida a MexAB-oprM. Essas bombas de efluxo atuam contra os β -lactâmicos, clorofenicol, fluorquinolonas, macrolídeos, sulfonamidas e tetraciclinas (NEVES, 2011; BAPTISTA, 2013).

Dentro desse âmbito, é de suma importância ressaltar que a resistência bacteriana é também um resultado que pode provir de como a comunidade médica faz uso dos antimicrobianos, assim como depende e variam muito do país, regiões e origem hospitalar, ou

seja, uma bactéria que é resistente a tal antibiótico em um determinado local não significa que assim se aplique a todos os outros. Como podemos observar nas citações acima, a MBL é uma enzima responsável em conferir resistência a *P. aeruginosa* na grande maioria dos antibióticos administrados nos hospitais do Brasil, e não se aplicando como um padrão para todo território global (GRILLO et al., 2013; CARVALHO, 2015).

Essas resistências que as bactérias desenvolvem aos antibióticos utilizados na terapia clínica, dificultam muito o tratamento de doenças que são provenientes desses patógenos, aumentando abruptamente o grau de morbidade e mortalidade. Faz-se necessário e obrigatório a busca de soluções para esse problema, uma alternativa que possa melhor viabilizar esse tratamento (GONÇALVES et al., 2009).

Os produtos oriundos de plantas medicinais durante o decorrer dos anos veem demonstrando uma ótima ação terapêutica com efeitos antivirais, antibacterianos, antifúngicos, inseticidas, dentre outros (MACHADO; JUNIOR, 2011).

No Brasil através do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicas, o governo busca a implementação da utilização de plantas medicinais com funções terapêuticas na melhoria da saúde e atenção aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2016).

Dentro desse âmbito destacam-se os óleos essenciais, esses que são compostos naturais, voláteis, complexos com um odor intenso característico. São produzidos por plantas aromáticas no metabolismo secundário, sendo biologicamente ativo, com atividade larvicida, antioxidante, analgésica, anti-inflamatória, fungicida e antitumoral. Quimicamente, a grande maioria dos componentes dos óleos voláteis apresenta estrutura terpenóide ou fenilpropanoide (CARMO et al., 2008; MACHADO; JUNIOR, 2011).

Os óleos essenciais tem uma significativa ação antimicrobiana, isso se dá pelas características hidrofóbicas que lhes conferem o poder de partição com os lipídios encontrados na membrana celular e mitocôndrias das bactérias, dessa forma desencadeando uma desordem nas estruturas celulares, consequentemente tornando mais permeável a membrana, causando então vazão das moléculas primordiais para a sobrevivência da bactéria, acarretando assim a morte da mesma (SOLÓRZANO; MIRANDA, 2012).

Frente a uma grande resistência de bactérias a antimicrobianos sintéticos, a descoberta de produtos naturais que fornecem princípios ativos com atividade antimicrobiana, surge então à solução para o tratamento de doenças infecciosas, causadas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, dentre elas a espécie *P. aeruginosa*, os quais esses produtos naturais, dentre eles os óleos essenciais, representam assim uma nova ferramenta para

produção e o uso de fitoterápicos no combate a esses agentes infecciosos (SILVA, et al., 2009; MENDES, 2011; KHAN; MALIK; AHMAD, 2012).

4 METODOLOGIA

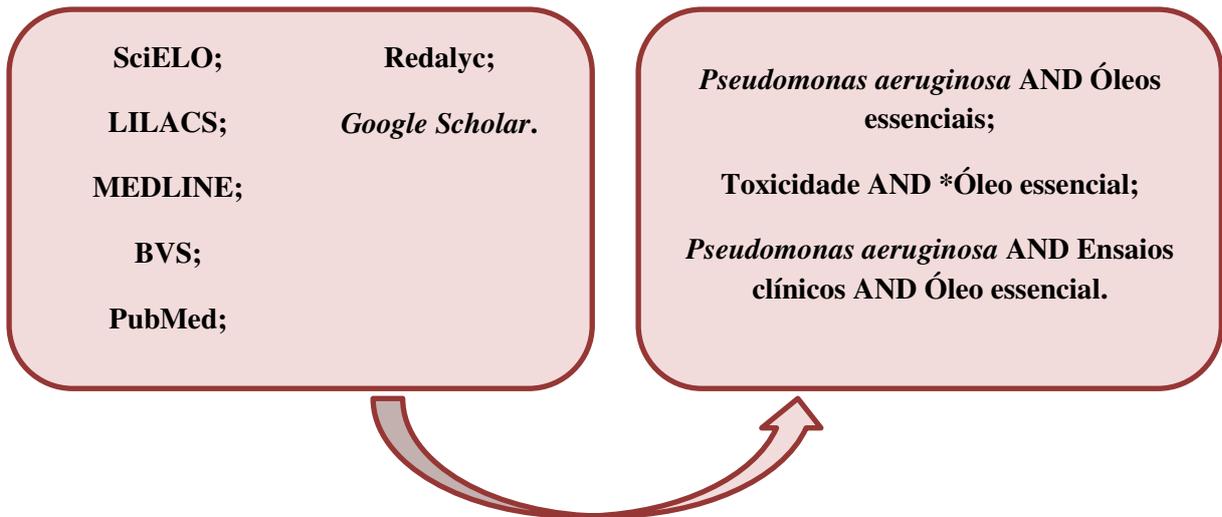
O trabalho em questão trata-se de uma revisão integrativa, no qual foi realizado um levantamento de dados através da literatura em relação ao tema abordado, possibilitando assim uma síntese do estado de conhecimento do mesmo. Buscando nessa perspectiva uma construção de uma análise ampla de literatura, colaborando para uma discussão sobre métodos e resultados de pesquisas, como também reflexões sobre a realização de futuros trabalhos (MENDES; SILVEIRA; GALVÃO, 2008).

A revisão integrativa da literatura corresponde a um método de pesquisa que possibilita a busca, avaliação crítica e a síntese das evidências disponíveis do tema estudado. Assim obtendo um produto final, esse sendo o estado atual do conhecimento do tema investigado, a introdução de intervenções efetivas na assistência à saúde e a redução de custos. Assim como, a identificação de lacunas que irão nortear para o desenvolvimento de futuras pesquisas. No decorrer da realização dessa revisão integrativa levou-se em consideração dadas etapas: uma definição do problema, assim como os objetivos da pesquisa; estabelecimento de critérios de inclusão e exclusão dos artigos analisados; selecionar amostra; submeter os artigos a uma categoria e avaliação; e por fim expor os resultados e interpreta-los (SOUSA; SILVA; CARVALHO, 2010; SOARES et al., 2014).

Para realizar a pesquisa e seleção dos artigos, foram utilizados bancos de dados de pesquisa virtual como, *Google Scholar*, *Science Direct Eletronic Libary Online* (SciELO), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), *National Library of Medicine* (PubMed), *Medical Literature Analysis and Retrieval Sistem Online* (MEDLINE) e Rede de Revistas Científicas da América Latina e Caribe, Espanha e Portugal (Redalyc), fazendo uso dos determinados descritores: *Pseudomonas aeruginosa*, óleos essenciais, toxicidade e estudos clínicos. A busca foi norteadada usando combinações na língua inglesa, língua espanhola e utilizando o operador booleano AND, como observarmos no esquema da figura 10.

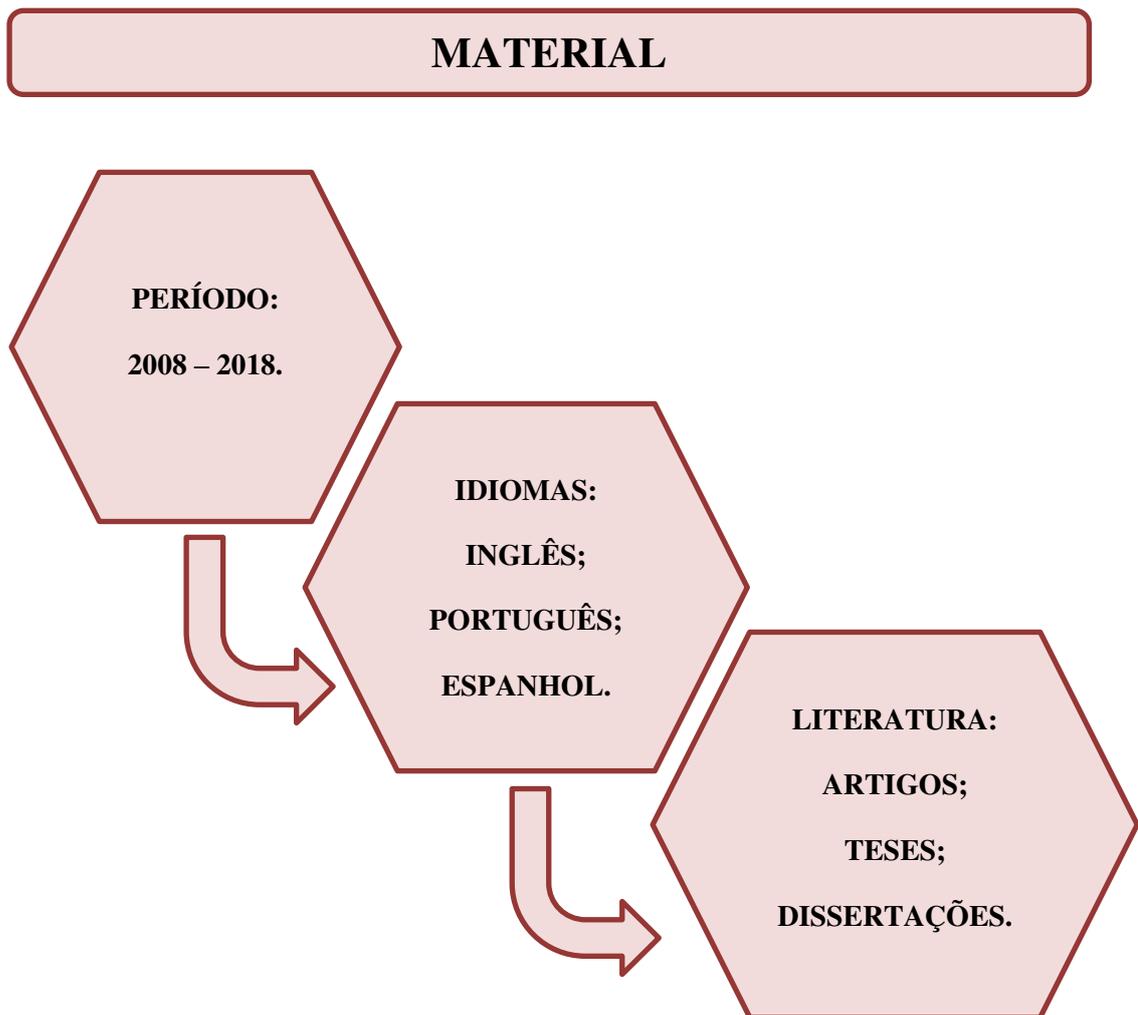
Os critérios de inclusão utilizados para serem feitas a seleção dos materiais utilizados no presente trabalho, estão apresentados no esquema da figura 11.

Figura 10: Bancos de dados e descritores utilizados.



* Cada óleo essencial específico que foi utilizado no trabalho.
Fonte: Autora, 2018.

Figura 11: Metodologia de inclusão.



Fonte: Autora, 2018.

Os critérios de exclusão basearam-se na eliminação de artigos, teses e dissertações que não estiveram dentro do período estabelecido; os que não estiveram completos na sua íntegra; artigos que não estiveram em inglês, português ou espanhol e com acesso mediante o pagamento.

No processo de seleção dos artigos utilizados na pesquisa, com o intuito de analisar a associação com o problema a ser investigado, realizou-se uma leitura dos seus respectivos títulos, resumos e conteúdo na íntegra. Nesse âmbito, após a busca nos bancos de dados (*SciELO; LILACS; MEDLINE; BVS; PubMed; Redalyc e Google Scholar*) encontrou-se 75 artigos no total, no qual foi realizada uma análise minuciosa seguindo como base os métodos de inclusão e exclusão, e dessa forma obteve-se uma quantidade de 62 artigos, estes que obedeceram rigorosamente os parâmetros de inclusão, porém desses, 7 foram excluídos por duplicidade, chegando a um resultado final de 55 artigos utilizados para fazer essa revisão integrativa. Fazendo uma divisão da quantidade de artigos e relacionando com booleano AND, 13 artigos foram encontrados para *Pseudomonas aeruginosa* AND Óleos essenciais, 16 artigos para *Óleo essencial AND Toxicidade e nenhum artigo foi encontrado para *Pseudomonas aeruginosa* AND Ensaio clínico AND Óleo essencial. Para o descritor **Espécies de plantas medicinais, foram encontrados 26 artigos.

A tabela 1 apresenta detalhadamente a quantidade de artigos com seus respectivos descritores e bancos de dados utilizados para a seleção dos artigos, tese e dissertação que foram dispostos nesse trabalho.

* Todos os 10 óleos essenciais relatados nesse estudo;

** Todas as 10 espécies de plantas medicinais respectivamente relatadas nesse estudo.

Tabela 1: Estratégia de Busca Eletrônica.

DESCRITORES	FONTES CONSULTADAS							TOTAL
	SciELO	LILACS	PubMed	MEDLINE	BVS	Redalyc	Google Scholar	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AND Óleos essenciais	5	5	1	3	3	-	2	19
<i>Origanum vulgare</i> L.	4	-	-	-	-	-	-	4
<i>Aloysia gratissima</i>	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	3	-	-	-	2	-	-	5
<i>Caryophyllus aromaticus</i> L.	2	-	-	-	1	-	-	3
<i>Cymbopogon winterianus</i>	-	-	-	-	2	-	-	2
<i>Cymbopogon nardus</i>	3	-	-	-	-	-	-	3
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	-	1	2	-	-	-	-	3
<i>Cinnamomum cassia</i>	-	-	2	-	-	-	-	2
<i>Zingiber officinale</i>	1	1	-	1	-	-	-	3
Toxicidade AND <i>Origanum vulgare</i> L.	-	-	-	-	4	2	-	6
Toxicidade AND <i>Myracrodruon urundeuva</i>	-	-	1	-	-	-	-	1
Toxicidade AND <i>Caryophyllus aromaticus</i> L.	1	-	-	-	-	-	1	2
Toxicidade AND <i>Cymbopogon winterianus</i>	-	-	-	2	-	-	1	3
Toxicidade AND <i>Cymbopogon nardus</i>	-	-	-	1	-	-	-	1
Toxicidade AND <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	-	-	-	1	-	-	1	2
Toxicidade AND <i>Zingiber officinale</i>	-	-	1	1	-	-	-	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AND Ensaios clínicos AND Óleos essenciais	-	-	-	-	-	-	-	-
TOTAL	19	7	7	9	13	2	5	62

Fonte: Autora, 2018.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pretendendo analisar e avaliar a importância do tema abordado no presente trabalho, foi realizada a busca de artigos na área científica em bancos de dados, conforme os descritores expostos anteriormente na tabela 1, com o propósito de demonstrar o número de publicações envolvidas nessa temática.

Dessa forma, com a estratégia de busca eletrônica utilizada, coletou-se resultados de 19 artigos na *SciELO*, 7 artigos na *LILACS*, 6 na *PubMed*, 8 na *MEDLINE*, 13 na *BVS*, 2 na *Redalyc* e 5 produções no *Google Scholar*.

Diante dos artigos pesquisados na literatura, constatou-se a presença de óleos essenciais (OE) com ação inibitória para a espécie *P. aeruginosa*, listando-os no Quadro 1, no qual podemos observar as espécies dos óleos, seu nome popular, principais componentes presentes nestes e suas concentrações inibitória mínimas (CIM), as quais não obedeceram padronização de suas medidas de concentrações, porém nesse trabalho foi realizada a padronização através da conversão destas unidades para a unidade de medida $\mu\text{g/mL}$, exceto para a unidade $\mu\text{L/mL}$ visto que a mesma para realizar sua conversão precisaria da densidade do óleo.

Quadro 1: Óleos essenciais com ação inibitória contra a *P. aeruginosa*, com seus compostos majoritários e respectivas Concentrações inibitória mínimas (CIM).

Origem	Nomes populares	Compostos majoritários	CIM	Referências
<i>Origanum vulgare</i> L.	Orégano	Carvacrol, α -terpineno, γ -terpineno, β -cimeno, 4-terpineol,	2500 – 5000 $\mu\text{g/mL}$; 15,62 $\mu\text{g/mL}$; 50000 $\mu\text{g/mL}$	Costa et al., 2009; Mallet et al., 2014; Santos; Piccoli; Tebaldi, 2017
<i>Aloysia gratissima</i>	Alfazema-do-brasil	E-cariofileno, germacreno B, guaiol, bulnesol; trans-pinocamfona, acetato de transpinocarveol	800 $\mu\text{g/mL}$ e 150 $\mu\text{g/mL}$	Santos et al., 2013
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Aroeira do sertão	Limoneno α -pinene, β -pinene, trans-cariofilene	7000 $\mu\text{g/mL}$	Araújo et al., 2017
<i>Caryophyllus aromaticus</i> L.	Cravo-da-índia	Eugenol, β -cariofileno, α -humuleno	400 - 600 $\mu\text{g/mL}$	Scherer et al., 2009
<i>Cymbopogon winterianus</i>	Citronela	Geraniol, β -citronelal, β -citronelol	400 - 600 $\mu\text{g/mL}$	Scherer et al., 2009
<i>Cymbopogon nardus</i>	Capim-citronela	Citronelal, geraniol, citronelol, β -elemeno, β -citronelol, citronelal	250,0 $\mu\text{g/mL}$; 25000 $\mu\text{g/mL}$	Andrade et al., 2012; Santos; Piccoli; Tebaldi, 2017
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Caneleira-verdadeira	Eugenol, (E)-cinamaldeído	10 $\mu\text{L/mL}$; 7,81 $\mu\text{g/mL}$	Trajano et al., 2010; Andrade et al., 2012
<i>Cinnamomum cassia</i>	Canela-chinesa	Aldeído cinâmico	1500 $\mu\text{g/mL}$	Santos; Piccoli; Tebaldi, 2017
<i>Zingiber officinale</i>	Gengibre	Geraniol, neral, 1,8-cineol	62,5 $\mu\text{g/mL}$	Andrade et al., 2012
<i>Eucalyptus paniculada</i>	Eucalipto	α -pinemo	2500 $\mu\text{g/mL}$	Silveira et al., 2012

Fonte: Autora, 2018

A espécie *Origanum vulgare*, assim como podemos ver na figura 12, conhecida popularmente como orégano, pertence à família Lamiaceae, cuja origem exata não se sabe ao certo, é amplamente distribuída em países da Europa e América Latina. Frequentemente utilizada na culinária com a finalidade aromática, realçando o sabor e a cor dos alimentos. Suas folhas são bastante utilizadas popularmente, para diversos fins medicinais, justificando muitos estudos em relação ao tema (GANDRA et al., 2013; SANTIN et al., 2014; ARAUJO; LONGO, 2016; VELASCO et al., 2017).

Destacando a ação antimicrobiana do óleo essencial (OE) de *O. vulgare*, provenientes de suas folhas, Costa et al. (2009) observaram essa ação ao realizar estudos *in vitro* através da técnica de difusão em ágar, contra quatro cepas de *P. aeruginosa* isoladas de materiais biológicos na presença do OE de *O.vulgare* L., no qual a CIM foi determinada pelo método de microdiluição, utilizando as concentrações de 80000 a 1250 $\mu\text{g/mL}$. Três (1, 2 e 3) das cepas dessa bactéria foram inibidas na CIM de 5000 $\mu\text{g/mL}$ e a cepa 4 foi inibida em menor concentração, sendo esta de 2500 $\mu\text{g/mL}$.

Figura 12: *Origanum vulgare* L. (Orégano)



Fonte:

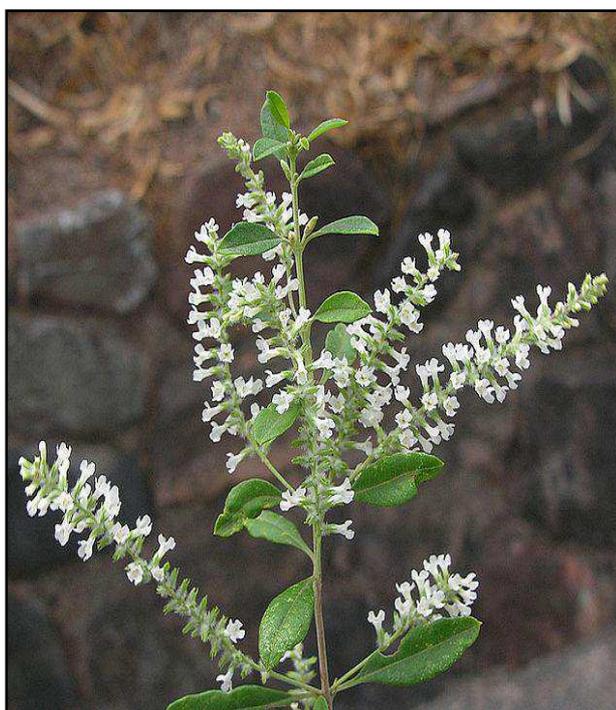
https://nn.wikipedia.org/wiki/Fil:Origanum_vulgare_04_ies.jpg. Acesso em 20 de maio de 2018.

Comprovando essa atividade antimicrobiana *in vitro*, utilizando também do método de difusão em ágar. Mallet et al. (2014) obtiveram óleo das folhas de *O. vulgare* L. utilizaram nove concentrações do OE de orégano contra a cepa de *P. aeruginosa*, estas sendo de 500 a

1,95 µg/mL, na qual a CIM foi de 15,62 µg/mL, produzindo um halo de inibição de 0,50 cm¹ frente a essa bactéria. Encontraram como principais constituintes do mesmo, o 4-terpineol (27,03%), γ-terpineno (20,04%), α-terpineno (10,51%), β-cimeno (6,34%) e carvacrol (4,22%). Santos et al. (2013) nos seus estudos confirmaram também a ação antimicrobiana do óleo essencial do orégano, utilizando a técnica de microdiluição em caldo, nas concentrações de 300 a 50000 µg/mL, a *P. aeruginosa* obteve sua inibição na concentração de 50000 µg/mL, confirmando assim que óleo essencial de *O. vulgare* L. é eficaz contra essa bactéria.

A espécie *Aloysia gratissima* (figura 13), é popularmente conhecida como alfazema-do-brasil, pertence à família Verbenaceae sendo distribuída em territórios com climas tropicais e subtropicais, tem como característica sua forma de arbustos com inflorescência de odor agradável. Frequentemente usada na medicina popular para o tratamento de bronquites, doenças pulmonares, distúrbios da bexiga, antiespasmódico, assim como estudos comprovam sua ação antimicrobiana. Por conter propriedades aromáticas também é utilizada em infusões pot-pourri (VANDRESEN et al., 2010; SANTOS et al., 2013).

Figura 13: *Aloysia gratissima*. (Alfazema-do-brasil)



Fonte:
[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aloysia_gratissima_\(8730120650\).jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aloysia_gratissima_(8730120650).jpg). Acesso em 20 de maio de 2018.

Santos et al. (2013), utilizando o óleo essencial das folhas e flores de *A. gratissima* contra cepas de *P. aeruginosa*, mediante do método de microdiluição analisaram a

concentração inibitória mínima (CIM) dessa espécie frente a bactéria mencionada. O OE das folhas apresentou uma CIM de 800 $\mu\text{g/mL}$, enquanto que OE das flores revelou-se mais eficaz com uma CIM de 150 $\mu\text{g/mL}$. Esta última por sua vez mostrou ser cinco vezes mais eficaz do que o antibiótico (clorofenicol) usado no controle no estudo desse autor, no qual este inibiu a bactéria na concentração de 850 $\mu\text{g/mL}$. Foram encontrados 29 compostos no OE das flores de alfazema-do-brasil, entre os quais os majoritários foram: o E-cariofileno (8,9%), germacreno B (10,5%), guaiol (19,5%) e bulnesol (10,0%); Nas folhas foram encontrados 21 compostos, sendo majoritários: acetato de trans-pinocarveol (17,6%), trans-pinocamfona (16,3%) e o guaiol (11,5%). Acredita-se que o sinergismo dos compostos majoritários seja responsável por essa atividade antibacteriana.

Myracrodruon urundeuva, como podemos observar na figura 14. É uma espécie pertencente à família Anacardiaceae, popularmente conhecida por aroeira-do-sertão. É uma planta que ocorre naturalmente desde o México até o Paraguai, encontrando-se no Brasil nas regiões nordeste, sudeste e centro-oeste. É amplamente utilizada na medicina popular brasileira para acne, tumores, reumatismo, inflamações em geral, dores, gastrite e outros. Estudos confirmam suas ações, analgésica, anti-inflamatória, antioxidante, antifúngica e antibacteriana (GOMES et al., 2013; OLIVEIRA; SOUZA; FILHO, 2014; CORDEIRO; FÉLIX, 2014; CECÍLIO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017).

Figura 14: *Myracrodruon urundeuva*. (Aroeira-do-sertão)



Fonte: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aroeira_arvore.jpg.

Acesso em 20 de maio de 2018.

Em estudo elaborado por Araújo et al. (2017) utilizando o óleo essencial das folhas de *M. urundeuva* comprovaram a ação antibacteriana *in vitro* contra cepas de *P. aeruginosa*, utilizaram como técnica, a microdiluição em caldo para analisar a CIM, nas concentrações de 450000 a 14 $\mu\text{g/mL}$, apresentando uma concentração inibitória mínima de 7000 $\mu\text{g/mL}$. O OE apresentou como principais componentes o α -pineno (87,85%), trans-cariofileno (1,57%), limoneno (1,42%) e β -pineno (1,42%). Esse resultado se dá provavelmente pelos compostos terpenóides que se apresentam em uma quantidade maior nos constituintes.

A espécie *Caryophyllus aromaticus* L. observada na figura 15, é mundialmente conhecida por cravo-da-índia, pertence à família Myrtaceae, é uma planta usada na culinária, indústrias de alimento e também na medicina. Contém como um dos constituintes do seu óleo o eugenol, que tem propriedades biológicas distintas confirmadas, sendo essas bactericida, antifúngico, larvicida, antioxidante e anti-inflamatória (SILVA et al., 2009; CANSIAN et al., 2017).

Figura 15: *Caryophyllus aromaticus* L. (Cravo-da-índia)



Fonte:

<http://www.asrazaindoherbal.com/2017/08/cengkeh-cengkih-clove-syzygium.html?m=1>. Acesso em 20 de maio de 2018.

Scherer et al. (2009) determinou uma atividade antimicrobiana do óleo essencial do cravo-da-índia contra cepas de *P. aeruginosa*, pelo método de microdiluição, obtendo como concentrações finais avaliadas entre 1800 a 200 $\mu\text{g/mL}$. O OE apresentou uma concentração inibitória mínima que variou de 400 a 600 $\mu\text{g/mL}$. Os compostos majoritários encontrados pelo autor foi o eugenol (83,7%), β -cariofileno (10,98%) e o α -humuleno (1,26%). O eugenol

provavelmente é o responsável pela ação antibacteriana desse óleo, pois o mesmo apresentou-se em maior quantidade nesse estudo.

Cymbopogon winterianus, como podemos vê-la na figura 16, pertence à família Poaceae, é uma espécie medicinal e aromática, popularmente conhecida como citronela, é cultivada na Índia e no Brasil, neste último seu uso é bem difundido devido ao emprego do seu óleo essencial ser fornecido para fabricação de repelentes. Essa planta por meio de alguns estudos demonstrou efeito larvicida, antifúngico, ação anti-*Candida*, assim como ação antibacteriana (OLIVEIRA et al., 2011; XAVIER et al., 2012). Confirmando sua atividade antibacteriana, Scherer et al. (2009) estudou o óleo essencial de citronela contra cepa de *P. aeruginosa*, visto que usou como método para a determinação da CIM o de microdiluição, utilizando concentrações que variaram de 1800 a 200 µg/mL. Pode-se constatar uma CIM do óleo que variou de 400 a 600 µg/mL, frente essa bactéria. Foram encontrados 17 compostos químicos no OE de citronela nesse estudo, sendo o β-citronelal (45,00%), geraniol (20,71%) e o β-citronelol (14,49%) os majoritários. Essa ação antibacteriana pode ser atribuída ao composto geraniol, visto que em estudos anteriores relatou-se seu relevante poder antimicrobiano.

Figura 16: *Cymbopogon winterianus*. (Citronela)



Fonte:

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cymbopogon_winterianus.jpeg. Acesso em 20 de maio de 2018.

O *Cymbopogon nardus* (capim-citronela), conforme figura 17, é uma espécie pertencente à família Poaceae, subfamília Panicoideae, sendo esse gênero constituído por oitenta e cinco espécies, originada do Ceilão e da Índia, mas pode ser cultivada na maioria dos

solos, possuindo um ótimo desenvolvimento em climas tropicais e subtropicais. Na Indonésia é utilizada em chá com finalidades digestivas e calmantes. O óleo essencial extraído dessa planta apresenta atividades repelentes a insetos, ação fungicida e bactericida, assim como utilizado na fabricação de perfumes e cosméticos. Possui um alto teor de geraniol e citronelal na sua composição (CASTRO et al., 2010; SEIXAS et al., 2011; ROCHA et al., 2012).

Figura 17: *Cymbopogon nardus*. (Capim-citronela)



Fonte:

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Citronella_\(Cymbopogon_nardus\)_1.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Citronella_(Cymbopogon_nardus)_1.jpg). Acesso em 20 de maio de 2018.

Santos; Piccoli; Tebaldi, (2017) analisando a ação antimicrobiana do óleo essencial de capim-citronela extraído das folhas, utilizaram várias espécies de bactérias entre elas a *P. aeruginosa*, na qual as culturas foram isoladas de aspirado traqueal de um hospital do sul Fluminense-RJ, Brasil. A CIM do óleo essencial foi determinada pela técnica de microdiluição, com concentrações variando de 300 a 50000 $\mu\text{g/mL}$. Na qual a CIM do OE para a *P. aeruginosa* foi de 25000 $\mu\text{g/mL}$. Apresentou como principais constituintes o geraniol (33,7%), citronelal (23,2%), β -citronelol (14,2%), elemol (3,6%) e β -elemeno (3,6%). A atividade antibacteriana pode ser explicada talvez pelo sinergismo dos componentes majoritários encontrados no OE.

Estudos realizados por Andrade et al. (2012), demonstraram a ação antimicrobiana do óleo de capim-citronela. Usou como técnica, a difusão cavidade em ágar para avaliar a atividade antibacteriana com concentrações entre 500 a 1,95 $\mu\text{g/ml}$, nesse estudo o óleo apresentou CIM para *P. aeruginosa* de 250,0 $\mu\text{g/mL}$. E encontraram 17 componentes

químicos sendo majoritários: o citronelal (47,12%), geraniol (18,56%) e citronelol (11,07%). O óleo é rico em monoterpenóides, acredita-se que por isso ele adquire essa característica antimicrobiana.

A espécie *Cinnamomum zeylanicum*, observada na figura 18, conhecida popularmente como caneleira-verdadeira, pertence à família Lauraceae. Sua casca que é retirada dos ramos finos da árvore, ao secar, enrola-se e adquire uma forma tubular chamada de canela em pau, quando moídas se obtêm a canela em pó, o óleo é obtido de galhos, cascas e folhas dessa planta. É frequentemente utilizada na culinária, porém possui propriedades antimicrobianas, antiparasitárias, antioxidantes e entre outras (BINATTI; GEROMEL; FAZIO, 2016; RANASINGHE et al., 2017; SHAHINA et al., 2018).

Figura 18: *Cinnamomum zeylanicum*. (Caneleira-verdadeira)



Fonte:

<https://www.flickr.com/photos/23465812@N00/3964428140>.

Acesso em 20 de maio de 2018.

Trajano et al. (2010) determinaram a ação antibacteriana do óleo essencial das folhas de *C. zeylanicum*, que apresentou uma concentração inibitória mínima contra a cepa de *P. aeruginosa* de 10 μ L/mL, determinada pela técnica de microdiluição em placas. Um total de 16 compostos foi encontrado na composição química desse óleo, sendo os majoritários o eugenol (73,27%), trans- β -cariofileno (5,38%), linalol (3,31%) e o acetato de álcool cinâmico (2,53%). Acredita-se que os responsáveis pela ação antimicrobiana do óleo sejam os terpenos oxigenados e hidrocarbonetos (por exemplo: o p-cimeno, α -pinene, β -pinene, linalol e 4-terpineole), porém outros estudos apontam o eugenol como agente responsável.

Em 2012, estudos desenvolvidos por Andrade et al. confirmaram a ação antibacteriana do óleo essencial retirado da cascas do tronco seco da caneleira-verdadeira, contra várias cepas, entre elas a *P. aeruginosa*. A técnica utilizada para identificar a atividade antibacteriana foi à difusão cavidade em ágar, utilizando concentrações que variaram entre 500 a 1,95 µg/mL. A partir dos diâmetros obtidos pode-se avaliar o perfil de sensibilidade da bactéria frente às concentrações do OE, apresentando uma CIM de 7,81 µg/mL. Foram identificados 14 constituintes, sendo majoritários o (E)-cinamaldeído (77,72%), acetato de (E)-cinamila (5,99%) e o 1,8-cineol (4,66%). A ação antibacteriana desse óleo se dá talvez pela alta concentração do componente aldeído cinâmico, encontrado nesse estudo, o que não se confirmou nos estudos de Trajano et al. (2010) no qual o componente com maior concentração foi o eugenol (73,27%), porém ambos os estudos mostraram a ação antibacteriana desse óleo frente a *P. aeruginosa*.

A canela-chinesa nome popular da espécie *Cinnamomum cassia*, conforme figura 19, pertencente à família Lauraceae encontrada no sul da China, Vietnã, Mianmar e Laos. É uma especiaria alimentar que apresenta propriedades medicinais, utilizada na medicina popular para tratamento da circulação sanguínea, doença alérgica, gastrite, além de serem relatadas na literatura suas atividades farmacológicas, como anti-inflamatório, antibacteriana, antioxidantes e até mesmo atividade anticancerígena (PARK et al., 2018; WU et al., 2018).

Figura 19: *Cinnamomum cassia*. (Canela-chinesa)



Fonte: <https://www.herbco.com/t-newsletter-cinnamon-profile.aspx>. Acesso em 20 de maio 2018.

O óleo essencial de *C. cassia* mostrou-se eficaz frente a cepas de *P. aeruginosa*, em estudo realizado por meio do método de microdiluição para determinar a concentração

inibitória mínima (CIM). As concentrações utilizadas para o presente estudo variaram de 300 a 50000 $\mu\text{g/mL}$, o óleo apresentou uma CIM contra essa bactéria de 1500 $\mu\text{g/mL}$. Os compostos majoritários encontrados foram o aldeído cinâmico (81%), na sequência com a mesma concentração (3%) a cumarina, benzaldeído, álcool cinâmico e o estireno. Provavelmente a atividade antibacteriana desse óleo esteja relacionada com a presença do composto majoritário cinamaldeído (SANTOS; PICCOLI; TEBALDI, 2017).

A *Zingiber officinale* conhecida também como gengibre, assim como observamos na figura 20, é uma espécie pertencente à família Zingiberaceae, é uma das especiarias mais importante do mundo, usada como matéria-prima na indústria de alimentos, produtos farmacêuticos e cosméticos. Essa planta apresenta ação antioxidante, além de apresentar atividade anti-inflamatória, antiemética, antibacteriana, entre outras (BRAHMBHATT et al., 2013; MOREIRA et al., 2013; GRANDIS et al., 2015).

Figura 20: *Zingiber officinale*. (Gengibre)



Fonte:
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Zingiber_officinale.JPG. Acesso em 20 de maio de 2018.



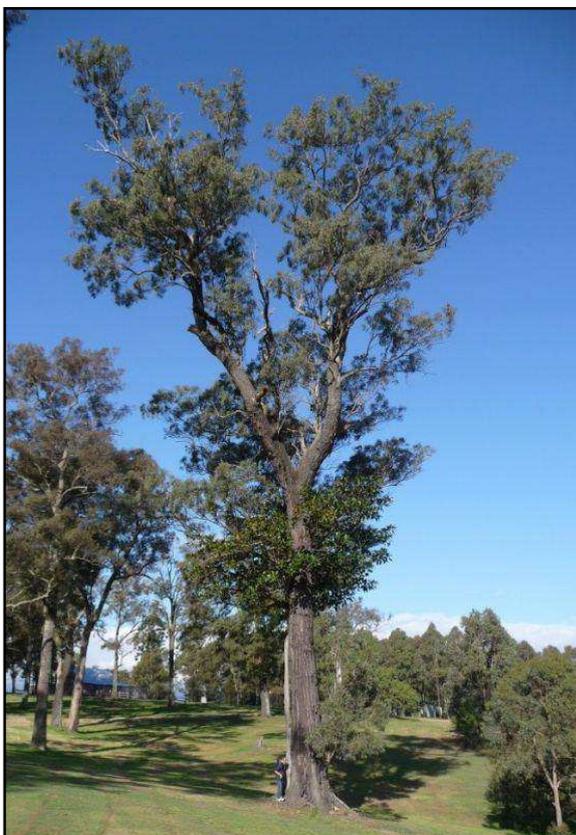
Fonte:
<https://www.flickr.com/photos/amonroy/7955691834>. Acesso em 20 de maio de 2018.

Visando estudar a ação antibacteriana do óleo essencial obtido do rizoma da *Z. officinale*, Andrade et al. (2012) utilizaram para identificar a concentração inibitória mínima desse óleo, a técnica de difusão cavidade em ágar contra cepas de algumas bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, entre elas a *P. aeruginosa*. As concentrações utilizadas para o estudo foram de 500 a 1,95 $\mu\text{g/mL}$, sendo a concentração inibitória do óleo essencial de gengibre para essa bactéria de 7,81 $\mu\text{g/mL}$. Foram encontrados nesse estudo para o OE de

gengibre, 22 compostos químicos, sendo os majoritários: geraniale (25,06%), neral (16,47%), 1,8-cineol (10,98%), geraniol (8,51%), acetato de geranilda (4,19%) e o canfeno (4,30%). Analisando outros estudos o autor pontuou que essa eficácia seja resultado da grande presença de monoterpenóides e álcoois terpênicos (por exemplo, geraniol).

O Eucalipto segundo estudo de Silveira et al. (2012) apresentou atividade antibacteriana contra a *P. aeruginosa*. Essa planta provém da espécie *Eucalyptus paniculata*, como observamos na figura 21. O óleo essencial foi obtido das partes aéreas (folhas) da planta. Para determinar a concentração inibitória mínima os autores utilizaram a técnica de microdiluição, e a atividade antimicrobiana foi detectada pela técnica de difusão em disco. O óleo obteve uma CIM de 2500 $\mu\text{g/mL}$ frente à cepa de *P. aeruginosa*. Foram encontrados 19 compostos químicos no óleo, sendo os majoritários o α -pinemo (55,47%), α -terpineno (15,84%) e o o-cimeno (11,78%). A presença do α -pinemo possivelmente seja a razão para a atividade antibacteriana do OE de eucalipto.

Figura 21: *Eucalyptus paniculata*. (Eucalipto)



Fonte:

https://www.nationalregisterofbigtrees.com.au/listing_view.php?listing_id=624. Acesso em 20 de maio de 2018.

Na literatura foi possível encontrar 10 espécies de plantas cujos óleos essenciais apresentaram atividade antibacteriana contra a *Pseudomonas aeruginosa*, estes sendo: *Origanum vulgare* L. (Orégano), *Aloysia gratíssima* (Alfazema-do-brasil), *Myracrodruon urundeuva* (Aroeira do sertão), *Caryophyllus aromaticus* L. (Cravo-da-índia), *Cymbopogon winterianus* (Citronela), *Cymbopogon nardus* (Capim-citronela), *Cinnamomum zeylanicum* (Caneleira-verdadeira), *Cinnamomum cassia* (Canela-chinesa), *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Eucalyptus paniculada* (Eucalipto). Vale ressaltar a escassez de artigos envolvendo esses estudos na literatura, sendo assim algumas espécies não apresentaram mais de um estudo envolvendo sua ação antimicrobiana contra a bactéria.

Evidenciando que a concentração inibitória mínima (CIM) fornece a menor concentração utilizada do óleo que exibe ação contra o agente a ser exposto, isto é, quanto menor a quantidade da substância necessária para inibir o crescimento bacteriano melhor a ação do óleo, e quanto maior a quantidade utilizada desse óleo para combater o crescimento bacteriano, menor é a sua ação antimicrobiana (OSTROSKY et al., 2008).

Nesse âmbito, comparou-se os valores de CIM de acordo com os parâmetros de atividade antibacteriana estabelecidos por Aligiannis et al. (2001), os quais classificaram, como forte concentrações que estiveram $\leq 500 \mu\text{g/mL}$, moderado concentrações entre $500 - 1500 \mu\text{g/mL}$ e fraco, concentrações $\geq 1500 \mu\text{g/mL}$.

Analisando os resultados da CIM dos óleos apresentados nesse trabalho, percebe-se que os óleos com forte atividade contra a *P. aeruginosa*, foram *C. zeylanicum*, *O. vulgare* L., *C. aromaticus* L. e *Z. officinale*, enquanto os óleos com fraca atividade contra essa bactéria foram *C. nardus* e *M. urundeuva*, conforme o quadro 2, que apresenta os óleos com suas respectivas atividades forte, moderada e fraca a partir das suas CIMs, assim como os respectivos autores de cada estudo utilizado neste trabalho.

Ressaltando que essa bactéria apresenta para algumas espécies de plantas uma menor sensibilidade, posto que a concentração inibitória mínima desses óleos para dispor de uma ação contra a *P. aeruginosa* em determinados casos é maior. Isso pode ocorrer pela estrutura da membrana externa celular dessa bactéria que restringe a difusão de compostos hidrofóbicos através da sua cobertura lipopolissacarídica (SANTOS; PICCOLI; TEBALDI, 2017).

Quadro 2: Atividade antibacteriana de acordo com Aligiannis et al. (2001).

ATIVIDADE	ÓLEOS ESSENCIAIS (CIM)
<p>FORTE ($\leq 500 \mu\text{g/mL}$)</p>	<p><i>C. zeylanicum</i> (7,81 $\mu\text{g/mL}$) (Andrade et al., 2012); <i>O. vulgare</i> L. (15,62 $\mu\text{g/mL}$) (Mallet et al., 2014); <i>Z. officinale</i> (62,5 $\mu\text{g/mL}$) (Andrade et al., 2012); <i>A. gratíssima</i> (150 $\mu\text{g/mL}$) (Santos et al., 2013); <i>C. nardus</i> (250,0 $\mu\text{g/mL}$) (Andrade et al., 2012); <i>C. witerianun</i> (400 – 600 $\mu\text{g/mL}$) (Scherer et al., 2009); <i>C. aromaticus</i> L. (400 – 600 $\mu\text{g/mL}$) (Scherer et al., 2009).</p>
<p>MODERADO (500 – 1500 $\mu\text{g/mL}$)</p>	<p><i>A. gratíssima</i> (800 $\mu\text{g/mL}$) (Santos et al., 2013); <i>C. cassia</i> (1500 $\mu\text{g/mL}$) (Santos et al., 2012).</p>
<p>FRACO ($\geq 1500 \mu\text{g/mL}$)</p>	<p><i>O. vulgare</i> L. (2500 $\mu\text{g/mL}$) (Costa et al., 2009); <i>E. paniculada</i> (2500 $\mu\text{g/mL}$) (Silveira et al., 2012); <i>M. urundeuva</i> (7000 $\mu\text{g/mL}$) (Araújo et al., 2017); <i>C. nardus</i> (25000 $\mu\text{g/mL}$) (Santos; Piccoli; Tebaldi, 2017); <i>O. vulgare</i> L. (50000 $\mu\text{g/mL}$) (Santos; Piccoli; Tebaldi, 2017).</p>

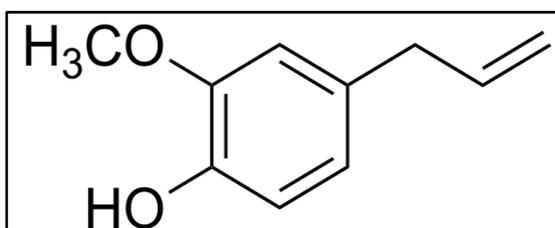
Fonte: Autora, 2018.

Evidenciou-se que a eficácia da ação desses óleos está ligada aos compostos químicos majoritários presentes nos mesmos, como a exemplo do eugenol, um dos fitoconstituintes encontrado nos óleos essenciais de *C. aromaticus* L. e *C. zeylanicum*.

O eugenol é um derivado fenilpropanóide, quimicamente conhecido como 4-alil-2-metóxfenol, conforme figura 22. Como podemos ver na figura 23, é sintetizado biologicamente, a partir do aminoácido fenilalanina, através da rota metabólica dos fenilpropanóides, via: chiquimato, fenilalanina e ácido cinâmico. Apresentando características lipofílicas, sendo assim rapidamente absorvido. Este, quando penetra as membranas

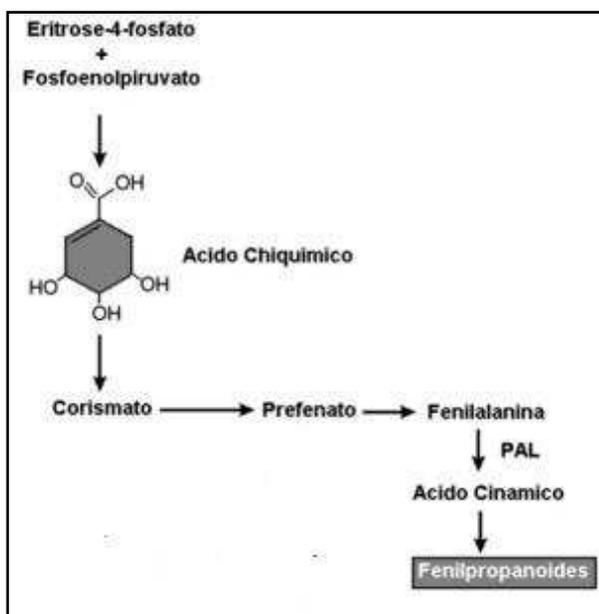
biológicas atinge as mitocôndrias, na qual inibe a oxidação do NADH (Nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida), diminuindo os níveis de ATP. Dentro desse contexto, a sua atividade antimicrobiana, algumas vezes, vem sendo atribuída à sua estrutura fenólica que, em concentrações mais altas, provoca a degeneração das proteínas das membranas celulares das bactérias, podendo dessa forma resultar em dano na membrana celular, conforme o eugenol foi um fitoconstituente presente no óleo de *C. zeylanicum*, este que apresentou a melhor CIM frente a *P. aeruginosa* nesse estudo, sugere-se que o eugenol pode ser considerado o composto ativo responsável pela atividade anti-*Pseudomonas* (LINARD, 2008; RESENDE, 2016).

Figura 22: Estrutura química do eugenol.



Fonte: Autora, 2018.

Figura 23: Rota metabólica dos fenilpropanóides.



Fonte:

<http://www.oleos essenciais.org/metabolismo-secundario-das-plantas/>. Acesso em 25 de maio de 2018.

As plantas produzem várias substâncias químicas que apresentam uma variedade de atividades biológicas, dentre elas, a capacidade curativa, essa que vem sendo observado desde os tempos mais remotos, quando as primeiras civilizações já faziam uso dessas especiarias para combater várias doenças. Esses conhecimentos foram repassados até os dias contemporâneos, nesse âmbito a medicina tradicional se torna uma excelente alternativa para a população no geral, sendo um meio mais acessível a todos e quando comparados aos custos de medicamentos industrializados, converte-se em uma ótima alternativa (PEREIRA et al., 2015).

5.1 Toxicidade

Os metabólitos secundários produzidos pelas plantas estão relacionados ao seu mecanismo de proteção contra predadores e patógenos, sendo assim podendo desencadear uma ação tóxica. Essa toxicidade desenvolvida por uma espécie vegetal pode estar associada a fatores referentes ao indivíduo e seu modo de uso, às plantas ao modo de exposição e as questões ambientais. Assim sendo, o uso inadequado ou sem um conhecimento mais profundo destas, pode desencadear uma intoxicação, que pode ser aguda ou crônica, de diagnóstico difícil, porque não se faz uma correlação direta do seu uso ao sintoma desenvolvido (BALBINO; DIAS, 2010; CAMPOS et al., 2016).

Para um medicamento ser liberado para comércio e posteriormente consumo, este deve passar por um processo de testes ou fases, sendo essas: pré-clínica, correspondente a experimentos laboratoriais. Nessa fase os testes de toxicidade estão inclusos. Os testes clínicos que subdividem em fase I (testes realizados com 20-80 voluntários saudáveis, com duração de semanas), fase II (testes realizados com 25-100 pacientes, com duração de semanas a meses, analisando a dosagem de segurança), fase III (testes realizados com 200-10000 pacientes, duração de meses a anos, analisando a eficácia e eventos adversos) e fase IV (testes realizados com 1000 a milhões de pacientes, com duração de anos, analisando a otimização do uso do medicamento) (ANVISA, 2015).

Os testes de toxicidade necessários para o desenvolvimento de novos medicamentos, preconizados pela ANVISA, correspondem a: estudos de toxicidade de dose única (aguda); estudos de toxicidade de doses repetidas; estudos de toxicidade reprodutiva (obtem como objetivo a toxicidade na reprodução de mamíferos); estudos de genotoxicidade; estudos de tolerância local; e estudos de carcinogenicidade (ANVISA, 2013).

Esses testes são indispensáveis e essenciais como parâmetro crucial para garantir a segurança de determinados produtos ou compostos. Sendo assim são elaborados com um objetivo de prevenir futuros efeitos nocivos nos sistemas biológicos, que podem causar morte de células e tecidos. São baseados em ensaios *in vitro* e *in vivo*, utilizando animais como agentes de estudos, estes sendo mais frequentes os ratos e microcrustáceos (por exemplo, a *Artemia salina*), esse último foi desenvolvido para detectar toxicidade de compostos bioativos em extratos vegetais, e é um método simples que possui uma relação com testes de toxicidade aguda oral *in vivo*. Nos dias atuais tornou-se a opção mais usada para o primeiro teste de escolhas para novas substâncias (LIMA et al., 2009; PITHON et al., 2011).

A toxicidade define-se em: aguda, quando a intoxicação ocorre em menos de 24 horas, avaliando a resposta mais rápida e severa de um agente tóxico, a sua avaliação usa-se geralmente à CL_{50} e a DL_{50} , que correspondem respectivamente à concentração letal e dose letal, responsáveis por matarem 50% do organismo-teste; crônica, quando a intoxicação desencadeia-se após 3 meses de contato com o composto; subaguda, ocorre até 1 mês; e subcrônica, essa que é desencadeada em um período de 1 a 3 meses de exposição com o composto (ANJOS, 2009).

A citotoxicidade é um teste que está dentro do âmbito da toxicidade, e corresponde a danos lesivos desencadeados nas células por exposição a agentes tóxicos, a sua avaliação é realizada pela concentração citotóxica (CC_{50}), representando a concentração nociva que atinge a viabilização de 50% das células testes (SILVA et al., 2010).

Buscando na literatura estudos que venham apresentar a toxicidade e citotoxicidade dos óleos essenciais expostos nesse trabalho, observou-se que dos 10 óleos avaliados, 7 apresentaram sua toxicidade no acervo literário, assim sendo deve ser salientado a escassez de estudos abordando esse assunto, e a necessidade da elaboração de mais estudos para elucidar os resultados já expostos, porém os dados encontrados serviram para direcionar uma temática e levantamento do assunto a ser exposto.

O quadro 3 apresenta assim os testes de toxicidades e citotoxicidades encontrados em artigos.

Quadro 3: Óleos essenciais com ação frente a *Pseudomonas aeruginosa* e seus respectivos testes de toxicidades e citotoxicidades, encontrados na literatura.

Origem	Aguda	Toxicidade subaguda ou subcrônica	Crônica	Citotoxicidade	Referências
<i>O. vulgare</i> L.	No estudo realizado usou-se náupilos de <i>Artemia salina</i> , obtiveram um resultado de letalidade após 24 horas de exposição de LC50=14,91 µg/mL. Apresentando assim sinal de toxicidade.	Em estudo feito para identificar a toxicidade desse óleo utilizou-se ratos (machos e fêmeas grávidas). Foram usadas concentrações de 30000, 90000 e 270000 µg/mL, em um período de até 70 dias. Apresentou uma teratogenicidade na maior concentração utilizada (270000 µg/mL), porém nas concentrações menores (30000 e 90000 µg/mL) não afetou os ratos. Mostrando que o óleo só é tóxico em concentrações mais elevadas.	Estudos não encontrados na literatura.	Em estudo utilizando células Vero analisou a citotoxicidade do óleo, por meio do método MTT, o teste foi realizado nas concentrações entre 78 e 5000 µg/mL. Na concentração de 78 µg/mL a citotoxicidade apresentada foi de 70%, na concentração de 5000 µg/mL a citotoxicidade foi superior a 75%.	(Leite et al., 2009; Oliveira et al., 2016; Hollenbach et al., 2017; Cleff et al., 2008; Cabello et al., 2017; Waller et al., 2016)
	Em estudos analisando a toxicidade oftálmica desse óleo em coelhos, utilizaram-se três concentrações do óleo (10000, 30000 e 90000 µg/mL), após 1; 24; 48 e 72 horas.				

Origem	Aguda	Toxicidade subaguda ou subcrônica	Crônica	Citotoxicidade	Referências
<i>O. vulgare</i> L.	Na concentração de 10000 µg/mL não foi considerado irritante e nas concentrações de 30000 e 90000 µg/mL como pouco irritante após 24 horas.	<p>Estudos em ratas (Wistar) nas concentrações de 30000 µg/mL, via oral e intra-vaginal pelo período de 30 dias não casou efeito tóxicos para as ratas estudados.</p> <p>Estudos feitos em ratos (Wistar), utilizando doses de 50, 100 e 200 mg/kg administrados de forma oral após 90 dias, revelou a falta de efeitos tóxicos subcrônicos nos ratos.</p>	Estudos não encontrados na literatura.		(Leite et al., 2009; Oliveira et al., 2016; Hollenbach et al., 2017; Cleff et al., 2008; Cabello et al., 2017; Waller et al., 2016)

Origem	Aguda	Toxicidade subaguda ou subcrônica	Crônica	Citotoxicidade	Referências
<i>M. urundeuva</i>	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	<p>O estudo utilizou células Vero (epiteliais renais de Cercopithecus aethiops), HeLa (adenocarcinoma cervical humano) e HEK-293 (linhagens de células embrionárias renais humano), usando o método de MTT.</p> <p>Obteve como resultados: após 24 horas apresentou citotoxicidade de 93,91 e 2,32% para Vero nas respectivas concentrações de 4400 e 2200 µg/mL do óleo, já para HeLa inibição das células de 11 e 21% nas doses respectivamente 1100 e 4400 µg/mL.</p>	(Araújo et al., 2017)

Origem	Aguda	Toxicidade subaguda ou subcrônica	Crônica	Citotoxicidade	Referências
<i>M. urundeuva</i>	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	Após 48 horas a citotoxicidade se intensificou, para VERO na concentração de 4400 µg/mL matou 94,26% das células, já para HeLa houve inibição de 32,4 e 44,3% nas respectivas concentrações de 2200 e 4400 µg/mL. Não houve toxicidade pra HEK-293.	(Araújo et al., 2017)
<i>C. aromaticus</i> L.	O estudo utilizou náuplios de <i>A. salina</i> . Apresentou um resultado de DL50= 1µg/mL após 24 horas, mostrando ser altamente tóxico.	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	(Rabêlo, 2010; Cansian et al., 2017)

Origem	Aguda	Toxicidade subaguda ou subcrônica	Crônica	Citotoxicidade	Referências
<i>C. aromaticus</i> L.	O estudo utilizou cistos de <i>A. salina</i> . Após 24 horas o óleo apresentou uma toxicidade de CL50= 0,5993 µg/mL.	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	(Rabêlo, 2010; Cansian et al., 2017)
<i>C. winterianus</i>	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	<p>O estudo utilizou para analisar a citotoxicidade o teste de exclusão do azul de tripano em Linfócitos (células). Os resultados desse teste mostraram que o óleo não foi considerado tóxico nas concentrações testadas.</p> <p>No estudo utilizou o método de MTT e o de exclusão do corante azul de tripano em Linfócitos</p>	(Sinha; Biswas; Mukherjee, 2011; Sinha et al., 2014)

Origem	Aguda	Toxicidade subaguda ou subcrônica	Crônica	Citotoxicidade	Referências
<i>C. winterianus</i>	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	(células), para analisar a citotoxicidade do óleo. Obteve como resultado a presença de toxicidade na concentração $\leq 1000 \mu\text{g/mL}$.	(Sinha; Biswas; Mukherjee, 2011; Sinha et al., 2014)
<i>C. nardus</i>	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	Para analisar a citotoxicidade, os autores utilizaram células renais normais (Vero), na qual o resultado apresentado apresentando uma $\text{IC}_{50} = >100 \mu\text{g/mL}$. Demonstrando um grau significativo de toxicidade.	(Muhd et al., 2013)
<i>C. zeylanicum</i>	Estudos utilizando <i>A. salina</i> , após 24 horas apresentou sinais de toxicidade de $\text{CL}_{50} = 162,1 \mu\text{g/mL}$.	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	No estudo utilizou células Vera (fibroblasto de rim de macaco), o método aplicado de estudo foi MTT.	(Reis, 2012; Silva, 2011; Sharifar et al., 2009; Unlu et al., 2010)

Origem	Aguda	Toxicidade subaguda ou subcrônica	Crônica	Citotoxicidade	Referências
<i>C. zeylanicum</i>		Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	O resultado apresentado no estudo foi uma significativa citotoxicidade entre as concentrações testadas de 26000 – 3250 µg/mL.	(Reis, 2012; Silva, 2011; Sharifar et al., 2009; Unlu et al., 2010)
				Estudo com Náuplios de <i>A. salina</i> (camarão salmoura). Utilizando os métodos de disco e solução. O óleo apresentou uma significante citotoxicidade com valor de CL50=0,03µg/mL.	
				No estudo utilizando fibroblastos normais de rato e fibroblastos de rato ativo H-ras, utilizou o método MTT.	

Origem	Aguda	Toxicidade subaguda ou subcrônica	Crônica	Citotoxicidade	Referências
<i>C. zeylanicum</i>		Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	Apresentou cintotoxicidade em ambas as linhas de células com uma dose de 15 µg/mL, com uma citotoxicidade bastante forte no valor de IC50 < 20µg/mL. Porém as células H-ras foram afetadas mais fortes, a viabilidade dessas células foi inibida em 70 e 10% com 25µg/mL do óleo.	(Reis, 2012; Silva, 2011; Sharifar et al., 2009; Unlu et al., 2010)
<i>Z. officinale</i>	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	Estudos não encontrados na literatura.	Estudo utilizando Náuplios de <i>A. Salina</i> O óleo apresentou citotoxicidade com valor de CL ₅₀ =10µg/mL.	(Sharififar et al., 2009)

Fonte: Autora, 2018.

Relacionando os valores das concentrações tóxicas dos OE com os valores das atividades avaliadas nos estudos utilizados nesse trabalho, analisou assim as ações tóxicas ou não desses óleos. Saliendo que, se a CIM dos óleos forem maiores do que as concentrações tóxicas desencadeadas por estes, confirma assim a toxicidade desses óleos, porém deve-se levar em consideração a necessidade de mais estudos envolvendo a toxicidade desses óleos, para assim confirmar sua total segurança.

Dentro desse contexto, o óleo essencial de *O. vulgare* L. apresentou toxicidade aguda com uma concentração letal (LC₅₀) de 14,91 µg/mL, em outro estudo pode-se analisar o efeito tóxico em olhos de coelhos, observando que o uso do óleo em pequenas concentrações não desencadeou uma ação tóxica, porém em concentrações mais altas apresentou um pouco de irritabilidade, mas não sendo significativa para ser considerado totalmente tóxico.

Nos estudos analisando a sua toxicidade subcrônica, observou sinais tóxicos nas concentrações de 30000 e 270000 µg/mL em doses baixas não apresentou efeito tóxico, em outro estudo contraposto a esse, observou-se que o óleo não apresentou toxicidade subcrônica em ratos Wistar o qual foi administrado por via oral e intra-vaginal em distintas concentrações. Diante da sua citotoxicidade verificou a presença de ação tóxica nas concentrações utilizadas (78 e 5000 µg/mL).

Comparando esses resultados de toxicidade com a CIM do óleo de *O. vulgare* não foi considerado muito tóxico visto que a menor CIM (15,62 µg/mL), dos três estudos usados nesse trabalho foi menor que as concentrações de toxicidade.

Para os óleos essenciais de *M. urundeuva* e *C. winterianus*, apenas estudos de citotoxicidade foram relatados. Apresentando sinais tóxicos nas concentrações de 4400 e 2200 µg/mL para *M. urundeuva*, e ≤ 1000 µg/mL para *C. winterianus*, visto que ambos só exibiram toxicidades nas concentrações mais altas, à medida que em concentrações mais baixas os mesmos não se mostraram tóxicos. Porém, comparando as CIM com as concentrações tóxicas desses óleos no presente trabalho, comprovou seus efeitos tóxicos, visto que a CIM para *M. urundeuva* foi de 7000 µg/mL, enquanto para *C. winterianus* foi de 400 – 600 µg/mL, mostrando que os óleos apresentaram ações anti-*Pseudomonas* com concentrações maiores que as concentrações tóxicas.

Com a relação ao óleo de *C. aromaticus* L. Rabêlo (2010) e Cansian et al. (2017), relataram a toxicidade aguda desse óleo. Com valores de DL₅₀= 1 µg/mL e CL₅₀= 0,5993 µg/mL respectivamente.

Comparando essas concentrações tóxicas com a CIM= 400 – 600 µg/mL do óleo de *C. aromaticus* L. relatada nesse trabalho, confirmou assim sua ação tóxica, visto que em baixas

concentrações mostrou sinais de toxicidades e este óleo só apresentou ação contra *P.aeruginosa* em uma concentração maior que as concentrações tóxicas.

Os óleos essenciais de *C. nardus* e *Z. officinale*, na literatura achou-se apenas relato de suas ações citotóxicas, comparando-as com suas concentrações de atividade contra *P.aeruginosa*, pode-se confirmar a ação tóxica de ambos os óleos, à medida que suas CIM são maiores que as concentrações tóxicas encontradas nesses estudos. O óleo de *C. nardus* apresentou $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ com uma $CIM = 250,0 \mu\text{g/mL}$. E o óleo essencial de *Z. officinale* apresentou uma citotoxicidade de $CL_{50} = 10 \mu\text{g/mL}$ com uma CIM foi de $62,5 \mu\text{g/mL}$ (SHARIFIFAR et al., 2009; MUHD et al., 2013).

O *C. zeylanicum* foi o óleo que apresentou melhor ação anti-*Pseudomonas* nesse trabalho, com uma CIM de $7,81 \mu\text{g/mL}$. No estudo sobre toxicidade exposto nesse trabalho, esse óleo apresentou sinais de toxicidade aguda nas concentrações de $162,1 \mu\text{g/mL}$ e uma citotoxicidade nas concentrações de $26000 - 3250 \mu\text{g/mL}$; $15 \mu\text{g/mL}$; $20 \mu\text{g/mL}$; $25 \mu\text{g/mL}$, mostrando assim ser pouco tóxico, visto que os sinais de toxicidade apresentados foram em concentrações mais altas que a CIM desse óleo (SHARIFAR et al., 2009; UNLU et al., 2010; SILVA, 2011; REIS, 2012).

Não foram encontrados na literatura estudos relatando a toxicidade dos óleos essenciais da *A. gratíssima*, *C. cassia* e *E. paniculada*. Um fato que deve ser analisado, visto que os mesmos apresentaram ação contra a *P. aeruginosa*, poderiam ser mais uma alternativa de tratamento para infecções causadas por essa bactéria, porém sem estudos confirmados nessa área, não se pode comprovar a sua segurança, e posteriormente seu uso não é seguro.

Diante dos resultados expostos pode-se compreender mais sobre a questão da toxicidade dos óleos essenciais apresentados nesse trabalho, porém fazem-se necessários mais estudos para elucidar esse tema e posteriormente ser uma alternativa para execução de mais métodos terapêuticos para combater as bactérias que são altamente resistentes aos métodos farmacológicos tradicionais, entre elas a *P. aeruginosa*.

Dentro desse contexto, os ensaios clínicos dos dez óleos essenciais utilizados nesse trabalho para *P. aeruginosa*, não foram encontrados estudos na literatura dos mesmos, fazendo-se essencial a necessidade para a realização desses estudos, visto que esses óleos essenciais, futuramente podem ser uma alternativa terapêutica para combater infecções causadas por essa bactéria.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Foram encontrados dez óleos essenciais, sendo esses: *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare* L., *Zingiber officinale*, *Aloysia gratíssima*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon winterianus*, *Caryophyllus aromaticus* L., *Cinnamomum cassia*, *Eucalyptus paniculada* e *Myracrodruon urundeuva* nessa revisão integrativa, demonstrando atividade contra a *Pseudomonas aeruginosa*. Destes os sete primeiros demonstraram forte atividade;
- *O. vulgare* L. e *C. zeylanicum*, mostraram-se menos tóxicos, visto que os mesmos só apresentaram toxicidade em altas concentrações, enquanto que em baixas mostraram-se seguros, porém mais estudos de toxicidade para averiguar a segurança da utilização destes devem ser realizados;
- não foram encontrados estudos referentes a ensaios clínicos dos respectivos óleos essenciais utilizados nesse trabalho, para *P. aeruginosa* evidenciando a carência de mais estudos pré-clínicos que permitam a realização de estudos clínicos;
- com relação as limitações do estudo, destaca-se a falta de padronização das unidades de medidas das concentrações inibitórias mínimas e de toxicidade, o que dificultou as comparações, porém nos casos possíveis de conversão, por exemplo, miligrama por micrograma e porcentagem por micrograma foram feitas e
- o óleo essencial de *C. zeylanicum* foi o que apresentou melhor ação anti-*Pseudomonas* e baixa toxicidade, apresentando sinais de toxicidade apenas em concentrações mais altas que a sua CIM. Diante dessa conclusão, percebe-se que este OE é o que mais se aproxima de um potencial candidato a novo antibacteriano, especialmente para infecções causadas por *P. aeruginosa*, necessitando-se, para tanto, de mais estudos pré-clínicos que possam corroborar ou não seu uso futuro.

REFERÊNCIAS

- ABEGG, P. T. G. M.; SILVA, L. L. Controle de infecção hospitalar em unidade de terapia intensiva: estudo retrospectivo. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 32, n. 1, p. 47-58, 2011.
- ALIGIANNIS, N. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 9, p. 4168-4170, 2001.
- ALVES, A. P. et al. Análise asséptica em ambientes de uso comum no campus da Universidade Castelo Branco, Realengo. **Revista Eletrônica Novo Enfoque**, v. 11, n. 11, p. 21 – 26, 2010.
- ANDRADE, M. A. et al. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, 2012.
- ANJOS, K. M. G. **Investigação e avaliação da toxicidade aguda dos agrotóxicos mais utilizados no cinturão verde da grande Natal (RN, Brasil) para o peixe-zebra (*Danio rerio* Hamilton Buchanan, 1822, teleostei, cyprinidae)**. 2009. 58 f. Dissertação (Mestre em biologia aquática). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.
- ARAÚJO, I. D. R. et al. Chemical composition and evaluation of the antibacterial and Cytotoxic activities of the essential oil from the leaves of *Myracrodruon urundeuva*. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 17, n. 1, p. 419, 2017.
- ARAUJO, M. M.; LONGO, P. L. Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 01-07, 2016.
- ANVISA. **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos**. Brasília, v. 2, p. 48, 2013.
- ANVISA. **Debater o uso da fosfoetanolamina sintética para o tratamento do câncer**. Brasília, p. 21, 2015.
- BALBINO, E. E.; DIAS, M. F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 6, p. 992-1000, 2010.
- BAPTISTA, M. G. F. M. **Mecanismo de resistência aos antibióticos**. 2013. 51 f. Dissertação (Mestre em ciências farmacêuticas). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa, 2013.
- BINATTI, T. T.; GEROMEL, M. R.; FAZIO, M. L. S. Ação antimicrobiana de especiarias sobre o desenvolvimento bacteriano. **Higiene alimentar**, v. 30, n. 260/261, p. 105-108, 2016.

- BRAHMBHATT, M. et al. Ginger phytochemicals exhibit synergy to inhibit prostate cancer cell proliferation. **Nutrition and cancer**, v. 65, n. 2, p. 263-272, 2013.
- BRASIL. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Brasília: Ministério da Saúde, p.190, 2016.
- CABELLO, M. L. R. et al. A subchronic 90-day oral toxicity study of *Origanum vulgare* essential oil in rats. **Food and chemical toxicology**, v. 101, p. 36-47, 2017.
- CAMPOS, S. C. et al. Toxicidade de espécies vegetais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 18, n. 1 supl I, p. 373-382, 2016.
- CANSIAN, R. L. et al. Toxicity of clove essential oil and its ester eugenyl acetate against *Artemia salina*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, n. 1, p. 155-161, 2017.
- CARMO, E. et al. The potential of *Origanum vulgare* L.(Lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 362-367, 2008.
- CARVALHO, A. C. Avaliação dos efeitos citotóxicos e antiproliferativos da secreção cutânea e de peptídeos do anuro *Physalaemus nattereri* (steindachner, 1863). 2015, 178 f. Tese (Doutor em biologia). Universidade de Brasília, Brasília, 2015.
- CARVALHO, A. V. S. Z. **Virulência e susceptibilidade antimicrobiana de amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em hospitais de São Luiz-MA**. 2011, 102 f. Dissertação (Mestre em biologia parasitária). Centro Universitário do Maranhão, São Luís, 2011.
- CASTRO, H. G. et al. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 308-314, 2010.
- CECÍLIO, A. B. et al. Antiviral activity of *Myracrodruon urundeuva* against rotavirus. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 2, p. 197-202, 2016.
- CLEFF, M. B. et al. Toxicidade pré-clínica em doses repetidas do óleo essencial do *Origanum vulgare* L.(Orégano) em ratas Wistar. **Latin American Journal Pharmacy**, v. 27, n. 5, p. 704-709, 2008.
- CORDEIRO, J. M. P.; FÉLIX, L. P. Conhecimento botânico medicinal sobre espécies vegetais nativas da caatinga e plantas espontâneas no agreste da Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3 suppl 1, p. 685-692, 2014.
- COSTA, A. C. et al. Antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* L.(Lamiaceae) against bacterial multiresistant strains isolated from nosocomial patients. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1B, p. 236-241, 2009.
- FIGUEIREDO, D. A.; VIANNA, R. P. T.; NASCIMENTO, J. A. Epidemiologia da Infecção Hospitalar em uma unidade de terapia intensiva de um hospital público municipal de João Pessoa-PB. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 17, n. 3, p. 233-240, 2013.

GALES, A. C. et al. Antimicrobial resistance among gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008–2010). **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 73, n. 4, p. 354-360, 2012.

GALETTI, R. **Estudo de *Pseudomonas aeruginosa* produtoras de metalo-beta-lactamase e de genes envolvidos na resistência aos carbapenêmicos**. 2010. 60 f. Dissertação (Mestre em biociências aplicadas à farmácia). Universidade de São Paulo Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2010.

GANDRA, E. A. et al. Potencial antimicrobiano y antioxidante de extractos vegetales de romero, hinojo, estragón y orégano. **Revista de Ciencia y Tecnología**, n. 20, p. 24-29, 2013.

GOMES, V. T. L. et al. Antimicrobial activity of natural products from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Aroeira-do-sertão). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n. 4, p. 529-533, 2013.

GONÇALVES, D. C. P. S. et al. Detecção de metalo beta lactamase em *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de pacientes hospitalizados. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 4, p. 411-414, 2009.

GRANDIS, R. A. et al. Avaliação da Atividade Antibacteriana do Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e do Maracujá Amarelo (*Passiflora edulis* Sims). **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 36, n. 1, p. 77-88, 2015.

GRILLO, V. T. R. S. et al. Incidência bacteriana e perfil de resistência a antimicrobianos em pacientes pediátricos de um hospital público de Rondônia, Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 117-123, 2013.

GUPTA, V. Metallo beta lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter species*. **Expert Opin Investing Drugs**, v. 17, n. 2, p. 131-43, 2008.

HIRSCH, E. B.; TAM, V. H. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. **Expert review of pharmacoeconomics & outcomes research**, v. 10, n. 4, p. 441-451, 2010.

HOLLENBACH, C. B. et al. Pre-and postnatal evaluation of offspring rats exposed to *Origanum vulgare* essential oil during mating, gestation and lactation. **Ciência Rural**, v. 47, n. 1, 2017.

KHAN, M. S. A.; MALIK, A.; AHMAD, I. Anti-candidal activity of essential oils alone and in combination with amphotericin B or fluconazole against multi-drug resistant isolates of *Candida albicans*. **Medical Mycology**, v. 50, n. 1, p. 33-42, 2012.

LEITE, A. M. et al. Preliminary study of the molluscicidal and larvicidal properties of some essential oils and phytochemicals from medicinal plants. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 842-846, 2009.

LEVINSON, W. **Microbiologia Médica e Imunológica**, 13ed. Porto Alegre, McGraw Hill Brasil, p. 8, 2016.

- LIMA, J. M. et al. Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* e sua toxicidade sobre o microcrustáceo *Artemia salina*. **Planta daninha**, v. 27, n.1, p. 7-11, 2009.
- LINARD, C. F. B. M. **Estudo do efeito antinociceptivo do eugenol**. 2008. 90 f. Dissertação (mestre em ciências fisiológicas). Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008.
- MACHADO, B. F. M. T.; JUNIOR, A. F. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos Acadêmicos**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.
- MALLET, A. C. T. et al. Chemical characterization of the *Allium sativum* and *Origanum vulgare* essential oils and their inhibition effect on the growth of some food pathogens. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 4, p. 804-811, 2014.
- MARQUIS, S. M; STANTON, B. A.; O'TOOLE, G. A. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation in the cystic fibrosis airway. **Pulmonary pharmacology & therapeutics**, v. 21, n. 4, p. 595-599, 2008.
- MELO, V. V.; DUARTE, I. P.; SOARES, A. Q. **Guia Antimicrobianos**. 1.ed., Goiânia: Guia (Coordenação de Farmácia) – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC-UFG), p. 15-43, 2012.
- MENDES, J. M. **Investigação da atividade antifúngica de óleo essencial de *Eugenia coryophyllata* Thunb.sobre cepas de *Candida tropicalis***. 2011. 82 f. Dissertação (Mestrado em produtos naturais e sintéticos bioativos – concentração: farmacologia). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.
- MENDES, K. D. S.; SILVEIRA, R. C. C. P.; GALVÃO, C. M. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. **Texto & contexto enfermagem**, v. 17, n. 4, 2008.
- MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura brasileira**, v. 27, n. 2, 2009.
- MOREIRA, J. L. B.; CARVALHO, C. B. M.; FROTA, C. C. **Visualização bacteriana e colorações**. Fortaleza: Imprensa Universitária, p. 13-14, 2015.
- MOREIRA, S. I. et al. Fungi and bacteria associated with post-harvest rot of ginger rhizomes in Espírito Santo, Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 3, p. 218-226, 2013.
- MOUTINHO, C. I. C. **Pesquisa e quantificação de *Pseudomonas aeruginosa*: Metodologia para acreditação do método normalizado**. 2013. 126 f. Dissertação (Mestre em tecnologia ambiental). Instituto Politécnico de Bragança Escola Superior Agrária, Bragança, 2013.
- MUHD, J. H. et al. Chemical composition and in vitro antitrypanosomal activity of fractions of essential oil from *Cymbopogon nardus* L. **Tropical biomedicine**, v. 30, n. 1, p. 9-14, 2013.
- MURRAY, P. G.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica: classificação, estrutura e replicação bacteriana**. 6. ed. Mosby Elsevier, 2010.
- NEVES, P. R. et al. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 4, p. 409-420, 2011.

OLIVEIRA, F. A. et al. In vitro antifungal activity of *Myracrodruon urundeuva* Allemão against human vaginal *Candida* species. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3, p. 2423-2432, 2017.

OLIVEIRA, F. P.; SOUZA, A. L.; FILHO, E. I. F. Caracterização da monodominância de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) no município de Tumiritinga–MG. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 2, p. 299-311, 2014.

OLIVEIRA, J. L. T. M. et al. Investigação oftalmológica pré-clínica do óleo essencial de *Origanum vulgare* L., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 75, n. 2, p. 115-120, 2016.

OLIVEIRA, W. A. de et al. Antifungal activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor against *Candida albicans*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 2, p. 433-441, 2011.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

PARK, G. H. et al. Cytotoxic activity of the twigs of *Cinnamomum cassia* through the suppression of cell proliferation and the induction of apoptosis in human colorectal cancer cells. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 18, n. 1, p. 28, 2018.

PEREIRA, J. B. A. et al. O papel terapêutico do Programa Farmácia Viva e das plantas medicinais no centro-sul piauiense. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 550-561, 2015.

PIRES, E. J. V. C. ***Pseudomonas aeruginosa*: estudo epidemiológico e da ação do óxido nítrico sobre biofilmes de amostras mucoides de pacientes com fibrose cística**. 2009. 112 f. Dissertação (Mestrado em microbiologia). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

PITHON, M. M. et al. Avaliação *in vitro* da citotoxicidade de enxaguatórios bucais com e sem álcool. **Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-maxilo-facial**, v. 11, n. 1, p. 93-98, 2011.

POLLOTO, M. **Detecção de genes de Betalactamases de amplo espectro em *Pseudomonas aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos isoladas em São José do Rio Preto-SP**. 2010. 79 f. Dissertação (Mestrado em microbiologia). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2010.

RABÊLO, W. F. **Caracterização química, toxicidade e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*)**. 2010. 79 f. Dissertação (Mestre em química analítica). Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2010.

RANASINGHE, P. et al. Evaluation of pharmacodynamic properties and safety of *Cinnamomum zeylanicum* (Ceylon cinnamon) in healthy adults: a phase I clinical trial. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 17, n. 1, p. 550, 2017.

- REIS, J. B. **Estudo analítico, avaliação da toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Canela) frente ao Caramujo *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818)**. 2012. 86 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Maranhão, São Luiz, 2012.
- REMPEL, L. C. T.; TIZZOT, M. R. P. A.; VASCO, J. F. M. Incidência de infecções bacterianas em pacientes queimados sob tratamento em hospital universitário de Curitiba. **Revista Brasileira de Queimaduras**, v. 10, n. 1, p. 3-9, 2011.
- RESENDE, D. B. **Síntese de glicosídeos de eugenol e análogos e avaliação da atividade antibacteriana in vitro e em embalagens ativas**. 2016. 70 f. Tese (Microbiologia agrícola). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- ROCHA, H. C. R. et al. Crescimento, produção de fitomassa e teor de óleo essencial de folhas de capim citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) em cultivo consorciado com algodoeiro colorido no semiárido mineiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.esp., p. 183-187, 2012.
- SANTIN, R. et al. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente a *Malassezia pachydermatis*. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 367-373, 2014.
- SANTOS, C. H. S.; PICCOLI, R. H.; TEBALDI, V. M. R. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 76, p. e1719, 2017.
- SANTOS, F. M. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from the leaves and flowers of *Aloysia gratissima*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 583-588, 2013.
- SCHERER, R. et al. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.4, p. 442-449, 2009.
- SEIXAS, P. T. L. et al. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim-citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n.esp., p. 523-526, 2011.
- SHAHINA, Z. et al. *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil induces cell wall remodelling and spindle defects in *Candida albicans*. **Fungal biology and biotechnology**, v. 5, n. 1, p. 3, 2018.
- SHARIFIFAR, F. et al. Bioassay screening of the essential oil and various extracts from 4 spices medicinal plants. **Pakistan journal of pharmaceutical sciences**, v. 22, n. 3, p. 317-322, 2009.
- SILVA, E. et al. Evaluation of the antifungal potential of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Mycoses**, v. 52, n. 6, p. 511-517, 2009.

SILVA, L. L. et al. Composição química, atividade antibacteriana in vitro e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 700-705, 2010.

SILVA, M. G. F. **Óleos essenciais e fitoconstituintes: citotoxicidade e potencial antibacteriano in vitro e em matriz alimentar de base láctea**. 2011. 64 f. Dissertação (Mestre em nutrição). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

SILVA, M. T. N. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n.3, p. 257-262, 2009.

SILVA, N. C. C. **Estudo comparativo da ação antimicrobiana de extratos de óleos essenciais de plantas medicinais e sinergismo com drogas antimicrobianas**. 2010. 75 f. Dissertação (Mestre em concentração biológica de parasitas e microrganismo - BPM). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

SILVEIRA, S. M. et al. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Eucalyptus paniculata* (eucalipto) e *Lavandula angustifolia* (lavanda). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 471-480, 2012.

SINHA, S. et al. Evaluation of toxicity of essential oils palmarosa, citronella, lemongrass and vetiver in human lymphocytes. **Food and chemical toxicology**, v. 68, p. 71-77, 2014.

SINHA, S.; BISWAS, D.; MUKHERJEE, A. Antigenotoxic and antioxidant activities of palmarosa and citronella essential oils. **Journal of ethnopharmacology**, v. 137, n. 3, p. 1521-1527, 2011.

SOARES, C. B et al. Revisão integrativa: conceitos e métodos utilizados na enfermagem. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 48, n. 2, p. 335-345, 2014.

SOLÓRZANO, S. F.; MIRANDA, N. M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 136- 141, 2012.

SOUZA, M. T.; SILVA, M. D.; CARVALHO, R. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein**, v. 8, n. 1 Pt 1, p. 102-106, 2010.

STRATEVA, T.; YORDANOV, D. *Pseudomonas aeruginosa* – a phenomenon of bacterial resistance. **Journal of medical microbiology**, v. 58, n. 9, p. 1133-1148, 2009.

TAMMA, P. D.; COSGROVE, S. E.; MARAGAKIS, L. L. Combination therapy for treatment of infections with gram-negative bacteria. **Clinical microbiology reviews**, v. 25, n. 3, p. 450-470, 2012.

TEIXEIRA, J. O. G. **Infecção da corrente sanguínea causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente aos carbapenêmicos: fatores associados a mortalidade e influência da terapia combinada com poliximina B e imipenem**. 2011. 94 f. Dissertação (Mestrado em ciências). Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 2011.

TRAJANO, V. N. et al. Inhibitory effect of the essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume leaves on some food-related bacteria. **Ciências Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 771-775, 2010.

TURANO, H. G. **Alternativas terapêuticas para o tratamento de infecções por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes endêmicas no Brasil**. 2012. 30 f. Dissertação (Mestre em ciências microbiológicas). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

UNLU, M. et al. Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 11, p. 3274-3280, 2010.

VANDRESEN, F. et al. Constituintes químicos e avaliação das atividades antibacteriana e anti-dematogênica de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. e *Aloysia virgata* (Ruiz & Pav.) Pers., Verbenaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 317-321, 2010.

VELASCO, V. et al. Estabilidad durante el almacenamiento de carne de pollos alimentados con orégano seco (*Origanum vulgare* L.) en la dieta. **Chilean journal of agricultural & animal sciences**, v.33, n.1 p. 28-38, 2017.

WALLER, S. B. et al. In vitro susceptibility of *Sporothrix brasiliensis* to essential oils of Lamiaceae family. **Mycopathologia**, v. 181, n. 11-12, p. 857-863, 2016.

WINN, W. J. R.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; KONEMAN, E. W.; PROCOP, G.; SCHRECHENBERGER, P. C.; WOODS, G. **Diagnóstico Microbiológico** 6^a Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2008.

WU, H. et al. *Cinnamomum Cassia* extracts suppress human lung cancer cells invasion by reducing u-PA/MMP expression through the FAK to ERK pathways. **International journal of medical sciences**, v. 15, n. 2, p. 115-123, 2018.

XAVIER, M. V. A. et al. Viabilidade de sementes de feijão caupi após o tratamento com óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. esp., p. 250-254, 2012.