

Ramalho, MAS, Santos, B, Ramalho, DF, Cunha, SMD, Anjos, RM, Oliveira, HMBF, Sousa, AP & Oliveira Filho, AA. (2020). Antiadherent activity of essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus citriodora* against *Klebsiella pneumoniae* strains. *Research, Society and Development*, 9(7):1-15, e406974245.

Atividade antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*

Antiadherent activity of essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus citriodora* against *Klebsiella pneumoniae* strains

Actividad no adherente de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus citriodora* contra las cepas de *Klebsiella pneumoniae*

Recebido: 05/05/2020 | Revisado: 07/05/2020 | Aceito: 11/05/2020 | Publicado: 20/05/2020

Maria Auxiliadora da Silva Ramalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9523-6347>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: mary.cyllya06@gmail.com

Bernadete Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4234-4752>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: bernadetes672@gmail.com

Daniel Fernandes Ramalho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8348-9141>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: daniel97vg@gmail.com

Saraghina Maria Donato da Cunha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3015-6175>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil.

E-mail: saracunha20@hotmail.com

Raline Mendonça dos Anjos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0751-7523>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: raline.anjos@gmail.com

Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8237-9920>

Hospital Universitário Ana Bezerra, Brasil

E-mail: Heloisambf@gmail.com

Aleson Pereira de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3430-477X>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: aleson_155@hotmail.com

Abrahão Alves de Oliveira Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7466-9933>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: abrahao.farm@gmail.com

Resumo

O presente trabalho objetiva avaliar a Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra a bactéria *Klebsiella pneumoniae*. Foi realizada a determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) utilizando a técnica de tubos inclinados ao vidro, na presença de 5% de sacarose. Após 24 horas, foi realizada a leitura por meio da observação visual da aderência da bactéria às paredes do tubo. Observou-se que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* apresentou uma boa eficiência antiaderente frente à cepa de *Klebsiella pneumoniae* apresentando inibição do biofilme na concentração 1:8 semelhante ao controle digluconato de clorexidina 0,12%. O óleo de *Eucalyptus citriodora* não inibiu a formação do biofilme em nenhuma das concentrações testadas. Conclui-se que somente o óleo essencial pertencente à espécie *Eucalyptus globulus* apresentou ação antiaderente contra a cepa *Klebsiella pneumoniae* podendo este ser usado como método alternativo no combate de biofilmes produzidos por *K. pneumoniae*.

Palavras-chave: Fitoterapia; Biofilmes; Resistência bacteriana.

Abstract

The present work aims to evaluate the Minimum Inhibitory Concentration of Adherence (MICA) of the essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus citriodora* against the bacterium *Klebsiella pneumoniae*. It was performed the determination of the Minimum Inhibitory Concentration of Adherence (MICA) using the inclined tube technique, in the presence of 5% sucrose. After 24 hours, the reading was performed through visual observation of the bacterium's adherence to the tube walls. It was observed that the essential

oil of *Eucalyptus globulus* showed a good antiadherent efficiency to the strain of *Klebsiella pneumoniae*, showing biofilm inhibition at a concentration of 1:8 similar to the 0.12% chlorhexidine digluconate control. *Eucalyptus citriodora* oil did not inhibit biofilm formation in any of the tested concentrations. It was concluded that only the essential oil belonging to the *Eucalyptus globulus* species, showed antiadherent action against the strain of *Klebsiella pneumoniae*, which can be used as an alternative method to combat biofilms produced by *K. pneumoniae*.

Keywords: Phytotherapy; Biofilms; Bacterial resistance.

Resumen

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la concentración inhibitoria de adhesión mínima (CIMA) de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus citriodora* contra la bacteria *Klebsiella pneumoniae*. La determinación de la Concentración Inhibitoria de Adhesión Mínima (CIMA) se realizó utilizando la técnica de tubos inclinados de vidrio, en presencia de sacarosa al 5%. Después de 24 horas, la lectura se realizó a través de la observación visual de la adherencia de la bacteria a las paredes del tubo. Se observó que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* mostró una buena eficacia antiadherente en comparación con la cepa de *Klebsiella pneumoniae*, mostrando inhibición de biopelículas a una concentración de 1: 8 similar al control de digluconato de clorhexidina al 0,12%. El aceite de *Eucalyptus citriodora* no inhibió la formación de biopelículas en ninguna de las concentraciones probadas. Se concluye que solo el aceite esencial perteneciente a la especie *Eucalyptus globulus* mostró una acción antiadherente contra la cepa *Klebsiella pneumoniae*, que puede usarse como un método alternativo para combatir las biopelículas producidas por *K. pneumoniae*.

Palabras clave: Fitoterapia; Biopelículas; Resistencia bacteriana.

1. Introdução

O uso de plantas medicinais é uma prática comum à humanidade desde períodos remotos, sendo seus primeiros recursos terapêuticos. A utilização de plantas medicinais está relacionada à prevenção e a cura de doenças por se tratar de uma prática de baixo custo constituindo em tradição facilmente transmitida por gerações. (Lopes, Feliciano, da Silva Diniz, & de Freitas Alves, 2010).

A fitoterapia é uma área do conhecimento que se encarrega ao uso de plantas ou extratos vegetais para fins medicinais. (Kim, 2012). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 75-85% da população principalmente de países em desenvolvimento utilizam-se desta terapêutica para os primeiros cuidados de saúde por apresentarem melhor aceitabilidade cultural, menos efeitos colaterais e menos riscos ao organismo. (Parekh, Jadeja, & Chanda, 2005).

Askari et al. (2012), relatam que as propriedades resultantes de plantas medicinais está sendo uma possível opção para a produção de novos antibióticos, isto porque possuem a capacidade de retardar o crescimento e destruir as bactérias, apresentando menos toxicidade à célula hospedeira. Essas propriedades são derivadas da presença de metabólitos secundários, princípios ativos como os aldeídos e compostos fenólicos que possuem atividade antimicrobiana. (Dash, Sultana, & Sultana, 2011).

As infecções nosocomiais são muito frequentes. Trata-se de infecções adquiridas por pacientes internados em hospitais, ou após a sua alta. Os biofilmes microbianos são um dos motivos que fazem as infecções nosocomiais serem de difícil tratamento. Estes biofilmes se formam através de uma comunidade de microorganismos que permanecem fixos às superfícies e envolvidos por uma matriz complexa de polissacarídeos, proteínas e DNA, tornando-os de difícil eliminação. (Henriques, Vasconcelos, & Cerca, 2013).

Infecção do Trato Urinário (ITU) é umas das infecções que mais ocorrem em comunidades ou hospitais. As bactérias uropatogênicas responsáveis por essas infecções possuem características especiais para a colonização e invasão do trato urinário, como fímbrias, a síntese de adesinas e toxinas que lhe permitem melhor aderência ao tecido do hospedeiro sendo consideradas como fatores de virulência por apresentar importante papel no mecanismo de infecção. (Heilberg & Schor, 2003). Esses microorganismos são transmitidos de pessoa para pessoa ou através de água ou alimentos contaminados, infectando indivíduos de todas as idades, principalmente indivíduos do sexo feminino.

Entre os agentes responsáveis pela ITU estão os gram-negativos *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, seguido dos gêneros *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Proteus*, e *Pseudomonas*. (Foxman, 2010; Heilberg & Schor, 2003). *Klebsiella pneumoniae* é um bacilo da família das Enterobacteriaceae, Gram-negativa, encapsulada, que infecta principalmente pessoas com o sistema imunológico comprometido, sendo um dos patógenos mais resistentes a antibióticos. (Pyra et al., 2017). Patógeno esse que pode se encontrado no trato respiratório alto, trato gastrointestinal e trato urinário, causando infecção urinária e pneumonia nosocomial. (Ko et al., 2002). *Klebsiella pneumoniae* está entre as bactérias multiresistentes.

Essa resistência é conferida pela produção das enzimas betalactamases e carbapenemases que hidrolisam os antimicrobianos betalactâmicos e os carbapenêmicos que representam boa parte das classes de fármacos encontrados nos mercados. (Alves & Behar, 2013).

Como visto, os antimicrobianos sintéticos tem sido uma opção de tratamento para diversas infecções, porém, o uso indiscriminado desses antibióticos acarreta em microorganismos mais resistentes, propiciando a sua implantação e propagação em ambientes comunitários e nosocomiais resultando em infecções de difícil cura e tratamento. (Abrantes & Nogueira, 2017). Deste modo, é de grande relevância a busca por produtos naturais para o combate desse problema, uma vez que o Brasil possui uma rica biodiversidade de espécies vegetais.

Eucalyptus é uma árvore alta, perene, da família Myrtaceae com cerca de 700 espécies catalogadas amplamente distribuídas e cultivadas por vários países por seu óleo, madeira, goma, polpa, valor medicinal e estético. Nativa da Austrália e Tasmânia, o gênero *Eucalyptus* possui um pouco mais 300 espécies apresentando óleos essenciais em suas folhas com grande interesse para indústrias farmacológicas, cosméticas e indústrias alimentícias. A espécie *Eucalyptus globulus*, cultivado em regiões subtropicais e mediterrâneas é uma das mais usadas segundo a farmacopéia internacional, por apresentar em seus óleos essenciais substâncias com ações anti-inflamatórias, antisséptica, antioxidante, anti-hiperglicêmica, aromatizante e conservante de alimentos. (Batish, Singh, Kohli, & Kaur, 2008; Takahashi, Kokubo, & Sakaino, 2004; Tyagi et al., 2014).

Eucalyptus citriodora é uma espécie que possui características diferentes com base em sua região de origem. As espécies originadas do norte da Austrália apresentam cascas rosadas diferenciando-as do sul que possuem em sua casca manchas e uma copa de folhas espalhadas. O *E. citriodora* foi introduzido no Brasil inicialmente com o intuito de produção de madeira, porém seu uso vai além, sendo cultivada hoje em dia principalmente para a produção de óleo essencial. (Vitti & Brito, 2003).

Esses óleos essenciais (OEs) são metabólitos secundários extraídos de partes aéreas de plantas que inclui em si compostos oxigenados como; fenóis, álcoois, ésteres, cetonas, aldeídos e óxidos, hidrocarbonetos; terpenos, enxofre orgânico e compostos nitrogenados e derivados de benzeno. (Berger, 2007). Diante disso, o objetivo desse trabalho foi avaliar a Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

2. Metodologia

As pesquisas são realizadas na sociedade para se alcançar novos conhecimentos como preconiza Pereira et al. (2018). Nos estudos laboratoriais podem-se realizar ensaios em condições controladas. O presente estudo contou com viés qualitativo e levemente quantitativo.

2.1 Ensaios *in vitro*

2.1.1 Substâncias-teste

Os óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* foram adquiridos da indústria Quinarí® (Pinhais-PR).

2.1.2 Espécies bacterianas e meio de cultura

Utilizou-se a bactéria de origem clínica *Klebsiella pneumoniae* (Kp 102). A cepa foi mantida em meio Ágar Muller Hinton (AMH) a uma temperatura de 4 °C, sendo utilizado para os ensaios repique de 24 horas em AMH incubado a 35 °C. No estudo da atividade antimicrobiana foi utilizado um inóculo bacteriano de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL padronizado de acordo com a turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland. (Cleeland & Squires, 1991; Hadacek & Greger, 2000).

2.1.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA)

As Concentrações Inibitórias Mínimas de Aderência (CIMA) dos óleos foram determinadas na presença de sacarose a 5%, de acordo com Gebara, Zardetto & Mayer (1996), usando-se concentrações correspondentes aos óleos essenciais puros das espécies *Eucalyptus globulus* e o *Eucalyptus citriodora* até a diluição 1:1024. A partir do crescimento bacteriano, a cepa de *Klebsiella pneumoniae* foi cultivada a 37°C em caldo Mueller Hinton (DIFCO, Michigan, Estados Unidos), depois foram distribuídos 0,9 mL do subcultivo em tubos de ensaio e, em seguida, adicionado 0,1 mL da solução correspondente às diluições do óleo essencial. A incubação foi feita a 37°C por 24 horas com tubos inclinados a 30°. A

leitura foi realizada através da observação visual da aderência da bactéria às paredes do tubo, após a agitação do mesmo. O ensaio foi realizado em duplicata. O mesmo procedimento foi realizado para o controle positivo, o digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard®, Colgate-Palmolive Company, Nova York, EUA). Foi considerada a CIMA a menor concentração do agente em contato com sacarose que impediu a aderência ao tubo de vidro.

3. Resultados e Discussão

Os resultados desse estudo revelam que a menor concentração do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* capaz de inibir a adesão da bactéria à parede do tubo foi de 1:8, exibindo uma boa eficiência contra a formação do biofilme por *Klebsiella pneumoniae* demonstrando resultado equivalente ao controle digluconato de clorexidina 0,12%, inibindo a formação do biofilme também na concentração 1:8.

As Tabelas 1 e 2 demonstram respectivamente os resultados das Concentrações Inibitórias Mínimas de Aderência dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora*, contra a cepa de *Klebsiella pneumoniae* bem como sua comparação com o digluconato de clorexidina 0,12%.

Tabela 1 - Concentração Inibitória Mínima de Aderência em µg/mL do Óleo essencial de *Eucalyptus globulus* e do digluconato de clorexidina 0,12% contra a cepa de *Klebsiella pneumoniae*.

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

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

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

Fonte: Próprio autor (2020).

Tabela 2 – Concentração Inibitória Mínima de Aderência em $\mu\text{g/mL}$ do Óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* e do digluconato de clorexidina 0,12% contra a cepa de *Klebsiella pneumoniae*.

<i>Eucalyptus citriodora</i>								
Concentração em $\mu\text{g/ml}$	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
	+	+	+	+	+	+	+	+

Digluconato de clorexidina 0,12%								
Concentração em $\mu\text{g/ml}$	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
	-	-	-	-	+	+	+	+

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

Fonte: Próprio autor (2020).

Ao analisar os resultados da atividade antiaderente do óleo de *Eucalyptus citriodora* observou-se que houve a formação do biofilme às paredes do tubo. Dessa forma o óleo essencial testado não apresentou inibição contra a *Klebsiella pneumoniae* em nenhuma concentração.

Conforme alguns autores, a ação bactericida dos óleos essenciais se deve à lipofilicidade dos óleos, que invadem a camada lipídica da membrana celular da bactéria, permitindo a permeabilidade dessas estruturas, ocasionando o extravasamento de íons e constituintes celulares provocando a lise celular. (Dagli, Dagli, Mahmoud, & Baroudi, 2015; Vergis, Gokulakrishnan, Agarwal, & Kumar, 2015).

A clorexidina trata-se de um antisséptico químico de uso oral potente e eficaz. Geralmente é utilizado como padrão para comparar a potência de outros antimicrobianos. Entretanto, embora pouco tóxico aos seres humanos, seu uso prolongado pode causar efeitos indesejáveis. (Hortense et al., 2010). Diante disso, em decorrência do aumento de patógenos multirresistentes frente aos antimicrobianos atuais, faz-se necessário o estudo e conhecimento das propriedades dos produtos naturais para serem utilizadas como método terapêutico para tratamento de diversas doenças. (Mota, Turrini, & Proveda, 2015).

Corroborando em parte com o resultado da presente pesquisa Mota et al. (2015) ao avaliarem a atividade antimicrobiana *in vitro* pelo teste da difusão em ágar do óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, xilitol e papaína, contra os micro-organismos *Pseudomonas aureginosa*, *Samonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* observaram que, dentre as substâncias utilizadas, o óleo essencial de

Eucalyptus globulus apresentou halos de inibição superior a do controle clorexidina 0,5% frente ao Gram-positivo *Staphylococcus aureus* e a mesma inibição em relação aos microrganismos Gram-negativos *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* e o fungo *Candida albicans*. Entretanto, não conseguiu inibir o crescimento das bactérias *P. aeruginosa* e *Salmonella* sp.

Contrucci, Silva, Júnior & Kozusny-Andreani, (2019) buscaram determinar o efeito de óleos essenciais sobre as Gram-negativas *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* utilizando os métodos de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos óleos essenciais de 8 espécies vegetais. De acordo com os resultados, todos os óleos demonstraram atividade antibacteriana com destaque para os óleos de *Eucalyptus globulus* e *Rosmarinus officinalis* que foram mais ativos frente a *E. coli* (CBM=3,13%), e menos eficazes contra a *P. aeruginosa* (CBM=25%). Já o óleo de *Cymbopogon nardus* foi eficaz contra a *P. aeruginosa* na concentração de 6,25%.

Segundo um estudo realizado por Poaty, Lahlah, Porqueres & Bouafif (2015) ao avaliarem a composição, atividade antimicrobiana e antioxidante de sete óleos essenciais entre eles o *Eucalyptus citriodora*, constataram uma moderada atividade antimicrobiana desta espécie frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Salmonella* Typhimurium (ATCC14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922), e os fungos *Aureobasidium pullulans* (ATCC 9348) *Aspergillus niger* (ATCC 16404). Tal resultado fortalece uma possível ação antimicrobiana do *E. citriodora* contra vários patógenos, no entanto ao ser testado contra *Klebsiella pneumoniae* na presente pesquisa não obteve atividade antiaderente em nenhuma das concentrações aplicadas.

Correa e colaboradores (2019) determinaram a atividade antimicrobiana e antibiofilme do óleo essencial de folhas secas de *Eucalyptus staigeriana* pelo método de disco-difusão e método de placa de microtitulação respectivamente, contra Gram-positivas e Gram-negativas e também resistentes e multirresistentes de *Enterococcus faecalis*. De acordo com os resultados conclui-se que o óleo de *E. staigeriana* possui ação antimicrobiana e antibiofilme apenas contra cepas Gram-positivas. Além disso, cepas de *E. faecalis* resistentes e multirresistentes mostraram a menor CIM (3,12 para 6,25%) quando comparado com a cepa referência de *E. faecalis* demonstrando assim que o óleo de *E. staigeriana* é uma opção promissora para controle de bactérias Gram-positivas resistentes de origem clínica e alimentar.

Souza (2019) analisou o potencial antimicrobiano e antiaderente do óleo essencial de *Lavandula* Híbrida Grosso contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* determinando a

Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) e comparando-a com o controle digluconato de clorexidina a 0,12%. Observou-se que o óleo de *Lavandula* Híbrida Grosso apresentou um elevado potencial antimicrobiano contra *K. pneumoniae*. Quanto a atividade antiaderente do óleo em sua menor concentração, apresentou uma expressiva inibição do biofilme da bactéria, com valor da CIMA de 1:32 enquanto que para o digluconato de clorexidina 0,12% a inibição foi a uma maior concentração com CIMA de 1:8. Dessa forma, tais resultados indicam o quanto os óleos essenciais podem ser empregados como alternativas terapêuticas para o combate de biofilmes bacterianos.

4. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* possui atividade antiaderente semelhante ao digluconato de clorexidina 0,12%, podendo ser utilizado como método alternativo de inibição da formação de biofilmes por *Klebsiella pneumoniae*, se fazendo promissor como agente antiaderente natural para o combate e prevenção da infecção causada pela bactéria em estudo. Vale ressaltar, a necessidade de mais estudos quanto aos mecanismos de ação que possam elucidar e contribuir para o combate da resistência bacteriana.

No entanto, embora o óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* tenha apresentado efeitos antimicrobianos na literatura, não obteve eficiência antiaderente no presente trabalho contra cepas de *K. pneumoniae* em nenhuma das concentrações testadas.

Referências

Abrantes, JA & Nogueira, JMR. (2017). Utilização de testes fenotípicos para a pesquisa de carbapenamases em enterobactérias: Uma ferramenta para orientação clínica. *Brazilian Journal of Clinical Analyses*, 49(3), 240-4. Recuperado de <http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2017/11/RBAC-vol-49-3-2017-revista-completa-corrigida-1.pdf#page=23>. doi: 10.21877/2448-3877.201700607

Alves, A. P., & Behar, P. R. P. (2013). Infecções hospitalares por enterobactérias produtoras de KPC em um hospital terciário do sul do Brasil. *Rev. AMRIGS*, 57(3), 213-218.

Askari, GA, Kahouadji, A, Mousaddak, M, Ouaffak, L, Charof, R & Mennane, Z. (2012). Evaluation of antimicrobial activity of aqueous and ethanolic extracts of leaves of *Vitis vinifera* collected from different regions in Morocco. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 12(1), 85-90. Recuperado de [https://www.idosi.org/aejaes/jaes12\(1\)12/12.pdf](https://www.idosi.org/aejaes/jaes12(1)12/12.pdf)

Batish, DR, Singh, HP, Kohli, RK & Kaur, S. (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest ecology and management*, 256(12), 2166-2174. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>

Berger, RG. (Ed.). (2007). *Flavours and fragrances: Chemistry, bioprocessing and sustainability*. Springer Science & Business Media.

Cleeland, R & Squires, E. (1991). Evaluation of new antimicrobials *in vitro* and in experimental animal infections. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 3:739-787.

Contrucci, BA, Silva, R, Junior, RA & Kozusny-Andreani, DI. (2019). Efeito de óleos essenciais sobre bactérias gram-negativas isoladas de alimentos. *Ensaio e Ciência*, 23(3), 180-184. Recuperado de <https://revista.pgsskroton.com/index.php/ensaoeciencia/article/view/7050>. doi: <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2019v23n3p180-184>

Correa, MS, Schwambach, J, Mann, MB, Frazzon, J & Frazzon, APG. (2019). Antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil from dried leaves of *Eucalyptus staigeriana*. *Arquivos do Instituto Biológico*, 86. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/aib/v86/1808-1657-aib-86-e0202018.pdf> . <https://doi.org/10.1590/1808-1657000202018>

Dagli, N, Dagli, R, Mahmoud, RS & Baroudi, K. (2015). Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry: A review. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 5(5), 335-340. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4606594/>. doi: 10.4103/2231-0762.165933

Dash, BK, Sultana, S & Sultana, N. (2011). Antibacterial activities of methanol and acetone extracts of fenugreek (*Trigonella foenum*) and coriander (*Coriandrum sativum*). *Life Sciences*

and Medicine Research, 27, 1-8. Recuperado de https://pdfs.semanticscholar.org/168a/cbb6e556677e9d865ae8fe65bab3667c5d9b.pdf?_ga=2.175534370.1812685927.1586176262-1610054218.1558808507

Foxman, B. (2010). The epidemiology of urinary tract infection. *Nature Reviews Urology*, 7(12), 653-660. Recuperado de <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrurol.2010.190>. doi: 10.1038/nrurol.2010.190

Gebara, ECE, Zardetto, CGDC & Mayer, MPA. (1996). Estudo in vitro da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. *Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo*, 10(4), 251-6.

Hadacek, F & Greger, H. (2000). Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 11(3), 137-147. Recuperado de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/%28SICI%291099-1565%28200005/06%2911%3A3%3C137%3A%3AAID-PCA514%3E3.0.CO%3B2-I>

Heilberg, IP & Schor, N. (2003). Abordagem diagnóstica e terapêutica na infecção do trato urinário: ITU. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 49(1), 109-116. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/ramb/v49n1/15390.pdf>. <https://doi.org/10.1590/S0104-42302003000100043>

Henriques, A, Vasconcelos, C & Cerca, N. (2013). A importância dos biofilmes nas infecções nosocomiais: O estado da arte. *Arquivos de Medicina*, 27(1), 27-36. Recuperado de <http://www.scielo.mec.pt/pdf/am/v27n1/v27n1a04.pdf>

Hortense, SR, Silva Carvalho, É, Carvalho, FS, da Silva, RPR, Magalhães Bastos, JR & Silva Bastos, R. (2010). Uso da clorexidina como agente preventivo e terapêutico na odontologia. *Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo*, 22(2), 178-184. Recuperado de <http://publicacoes.unicid.edu.br/index.php/revistadaodontologia/article/view/414>

Kim, SW. (2012). Phytotherapy: emerging therapeutic option in urologic disease. *Translational Andrology and Urology*, 1(3), 181-191. Recuperado de

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4708250/>. doi: 10.3978/j.issn.2223-4683.2012.05.10

Ko, WC, Paterson, DL., Sagnimeni, AJ, Hansen, DS., Von Gottberg, A, Mohapatra, S ... & Yu, VL. (2002). Community-acquired *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: global differences in clinical patterns. *Emerging Infectious Diseases*, 8(2), 160-166. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2732457/>. doi: 10.3201/eid0802.010025

Lopes, GAD, Feliciano, LM, Silva Diniz, RE & de Freitas Alves, MJQ. (2010). Plantas medicinais: Indicação popular de uso no tratamento de hipertensão arterial sistêmica (HAS). *Revista Ciência em Extensão*, 6(2), 143-55. Recuperado de https://ojs.unesp.br/index.php/revista_proex/article/view/377/368

Mota, VDS, Turrini, RNT & Poveda, VB. (2015). Atividade antimicrobiana do óleo de *Eucalyptus globulus*, xilitol e papaína: estudo piloto. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, 49(2), 216-220. Recuperado de: https://www.scielo.br/pdf/reeusp/v49n2/pt_0080-6234-reeusp-49-02-0216.pdf. doi: 10.1590/S0080-623420150000200005

Parekh, J, Jadeja, D & Chanda, S. (2006). Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. *Turkish Journal of Biology*, 29(4), 203-210. Recuperado de <http://journals.tubitak.gov.tr/biology/issues/biy-05-29-4/biy-29-4-3-0506-4.pdf>

Pereira, AS, Shitsuka, DM, Parreira, FJ & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

Poaty, B, Lahlah, J, Porqueres, F & Bouafif, H. (2015). Composition, antimicrobial and antioxidant activities of seven essential oils from the North American boreal forest. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(6), 907-919. Recuperado de: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-015-1845-y>. doi: 10.1007/s11274-015-1845-y

Pyra, A, Brzozowska, E, Pawlik, K, Gamian, A, Dauter, M & Dauter, Z. (2017). Tail tubular protein A: a dual-function tail protein of *Klebsiella pneumoniae* bacteriophage KP32. *Scientific Reports*, 7(1), 1-9. Recuperado de <https://www.nature.com/articles/s41598-017-02451-3.pdf>. doi: 10.1038/s41598-017-02451-3

Souza, ERL. (2019). *Potencial antimicrobiano e antiaderente do óleo essencial de Lavandula Híbrida Grosso contra cepas de Klebsiella pneumoniae*. 2019. 62 f. (Trabalho de conclusão de curso) - Curso de Odontologia, Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, Patos, PB, Brasil.

Takahashi, T, Kokubo, R & Sakaino, M. (2004). Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculata*. *Letters in Applied Microbiology*, 39(1), 60-64. Recuperado de <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1472765X.2004.01538.x>.
<https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01538.x>

Tyagi, AK, Bukvicki, D, Gottardi, D, Tabanelli, G, Montanari, C, Malik, A & Guerzoni, ME. (2014). *Eucalyptus* essential oil as a natural food preservative: in vivo and in vitro antiyeast potential. *BioMed Research International*, 2014. Recuperado de <http://downloads.hindawi.com/journals/bmri/2014/969143.pdf>.
<https://doi.org/10.1155/2014/969143>

Vergis, J, Gokulakrishnan, P, Agarwal, RK. & Kumar, A. (2015). Essential oils as natural food antimicrobial agents: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(10),1320-1323. Recuperado de <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2012.692127>

Vitti, AMS & Brito, JO. (2003). Óleo essencial de eucalipto. *Documentos florestais*, 17, 1-35.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Maria Auxiliadora da Silva Ramalho – 20%

Bernadete Santos – 10%

Daniel Fernandes Ramalho – 10%

Saraghina Maria Donato da Cunha – 10%

Raline Mendonça dos Anjos – 10%

Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira – 10%

Aleson Pereira de Sousa – 10%

Abrahão Alves de Oliveira Filho – 20%