

Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Mentha piperita* e *Citrus limon* contra cepas patogênicas

In vitro antimicrobial activity evaluation of *Mentha piperita* and *Citrus limon* essential oils against pathogenic strains

Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Mentha piperita* y *Citrus limon* frente a cepas patógenas

Recebido: 24/09/2023 | Revisado: 07/10/2023 | Aceitado: 08/10/2023 | Publicado: 11/10/2023

Yuri Guimarães Bomfim

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-9950-7503>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: yuri.bomfim@ufba.br

Brenda Sousa Queiroz

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-7593-3755>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: brendaqueiroz.832@gmail.com

Milena Soares dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1995-140X>
Universidade Federal da Bahia, Brasil
E-mail: milenasoares.ims@gmail.com

Resumo

A elevada prevalência de microrganismos resistentes aos antimicrobianos comumente utilizados na prática clínica tem impactado os serviços de saúde devido à redução das opções de tratamento para os pacientes. Dessa forma, pesquisas envolvendo a atividade antimicrobiana de óleos essenciais (OE) tem sido realizadas como possíveis alternativas terapêuticas. O objetivo deste trabalho foi revisar a literatura e determinar experimentalmente a atividade antimicrobiana dos OE de *Mentha piperita* e *Citrus limon* frente aos patógenos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. A busca bibliográfica e a seleção de artigos científicos foram realizadas nas bases de dados Pubmed, Biblioteca Virtual em Saúde e Scielo, adaptando-se os indexadores para cada base. Foram selecionados artigos completos, de acesso livre e publicados entre 2016 e 2022. A atividade antimicrobiana foi avaliada a partir microrganismos referência através do método de disco-difusão em ágar conforme metodologias preconizadas pelo CLSI e BrCAST. A pesquisa bibliográfica resultou em 533 artigos, dos quais foram selecionados 25 para a análise. A avaliação do OE de *M. piperita* demonstrou atividade contra *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans* e o OE de *C. limon* apresentou atividade para *C. albicans*. Nenhum dos OE testados apresentou atividade contra *P. aeruginosa*. Os dados deste trabalho destacam o potencial destes OE frente a patógenos importantes para a saúde humana e sugere a necessidade de novos estudos frente a outros patógenos emergentes para a saúde pública, além de melhor compreender a sua aplicabilidade como alternativa natural e segura para o controle das infecções bacterianas e fúngicas.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana; Óleo essencial; *Mentha piperita*; *Citrus limon*.

Abstract

The high prevalence of microorganisms resistant to antimicrobials commonly used in clinical practice has impacted healthcare services due to a reduction in treatment options for patients. Thus, research involving the antimicrobial activity of essential oils (EO) was carried out as possible therapeutic alternatives. The objective of this work was to review the literature and experimentally determine the antimicrobial activity of *Mentha piperita* and *Citrus limon* EO against the pathogens *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. The bibliographic search and selection of scientific articles were carried out in the Pubmed, Virtual Health Library and Scielo databases, adapting the indexers for each database. Complete, open access articles published between 2016 and 2022 were selected. Antimicrobial activity was evaluated from reference microorganisms using the agar disk diffusion method according to methodologies recommended by CLSI and BrCAST. The bibliographic research searched for 533 articles, of which 25 were selected for analysis. The evaluation of the EO from *M. piperita* showed activity against *E. coli*, *S. aureus* and *C. albicans* and the EO from *C. limon* showed activity against *C. albicans*. None of the EO tested showed activity against *P. aeruginosa*. The data from this work highlight the potential of these EOs against pathogens important to human health and suggest the need for new studies against other emerging pathogens for

public health, in addition to better understanding their applicability as a natural and safe alternative for controlling infections. bacterial and fungal.

Keywords: Antimicrobial activity; Volatile oils; *Mentha piperita*; *Citrus limon*.

Resumen

La alta prevalencia de microorganismos resistentes a los antimicrobianos comúnmente utilizados en la práctica clínica ha impactado los servicios de salud debido a una reducción en las opciones de tratamiento para los pacientes. Así, se llevaron a cabo investigaciones que involucran la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales (AE) como posibles alternativas terapéuticas. El objetivo de este trabajo fue revisar la literatura y determinar experimentalmente la actividad antimicrobiana de los AE *Mentha piperita* y *Citrus limon* contra los patógenos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. La búsqueda bibliográfica y selección de artículos científicos se realizó en las bases de datos Pubmed, Biblioteca Virtual en Salud y Scielo, adaptando los indexadores para cada base de datos. Se seleccionaron artículos completos y de acceso abierto publicados entre 2016 y 2022. La actividad antimicrobiana se evaluó a partir de microorganismos de referencia mediante el método de difusión en disco de agar según las metodologías recomendadas por CLSI y BrCAST. La investigación bibliográfica buscó 533 artículos, de los cuales 25 fueron seleccionados para el análisis. La evaluación del AE de *M. piperita* mostró actividad contra *E. coli*, *S. aureus* y *C. albicans* y el AE de *C. limon* mostró actividad contra *C. albicans*. Ninguno de los AE probados mostró actividad contra *P. aeruginosa*. Los datos de este trabajo resaltan el potencial de estos AE contra patógenos importantes para la salud humana y sugieren la necesidad de nuevos estudios contra otros patógenos emergentes para la salud pública, además de comprender mejor su aplicabilidad como una alternativa natural y segura para el control de infecciones bacterianas. y hongos.

Palabras clave: Actividad antimicrobiana; Aceites volátiles; *Mentha piperita*; Cítricos de limón.

1. Introdução

A descoberta da penicilina por Alexander Fleming, na década de 1920, revolucionou o tratamento de infecções, o que promoveu grandes avanços no cuidado em saúde (Huemer *et al.*, 2020). Contudo, a prescrição inapropriada e em larga escala de antimicrobianos, a disseminação de infecções hospitalares para as comunidades, assim como o uso disseminado na agricultura e em animais, resultaram na elevada prevalência e incidência de resistência a quase todos os antimicrobianos utilizados na prática clínica, incluindo colistina (polimixina E) (Dhingra *et al.*, 2020; Vale *et al.*, [s.d.]; WHO, 2021).

Ainda na década de 1940, foram identificadas várias bactérias com resistência adquirida, como por exemplo, *Staphylococcus aureus*, e, atualmente, observa-se que as bactérias Gram-negativas tem se destacado pelo elevado perfil de resistência aos antimicrobianos, sendo classificadas como MDR, XDR e PDR, as quais impactam o tratamento de diversas infecções comuns, como diarreia, infecções do trato urinário, seps e infecções sexualmente transmissíveis (Dhingra *et al.*, 2020; WHO, 2021). O padrão multidroga resistente (MDR) foi demarcado como resistência a pelo menos um agente em três ou mais classes antimicrobianas, extensivamente resistente a medicamentos (XDR) foi delineado como não sensibilidade a pelo menos um agente em todos os grupos antimicrobianos, exceto dois ou menos (ou seja, isolados bacterianos permanecem suscetível a apenas uma ou duas categorias) e pan-resistente a medicamentos (PDR) foi descrito como resistência a todos os medicamentos em todas as classificações antimicrobianas (Magiorakos *et al.*, 2020).

O surgimento e alta incidência de resistência antimicrobiana (AMR), devido aos diferentes mecanismos de resistências desenvolvidos pelos microrganismos, resultam muitas vezes em desfechos negativos para os setores de saúde, como o prolongamento do tratamento e a gravidade da doença, falhas no tratamento, maior suscetibilidade a infecções em pacientes submetidos a cirurgias e aumento nas taxas de mortalidade e custos (Pulingam *et al.*, 2022).

Em 2014 foram reportadas 700.000 mortes decorrentes de AMR, sendo estimado que até 2050 ocorram de 11 a 44 milhões de óbitos, além de custos que podem variar de 300 bilhões a um trilhão de dólares. Essa problemática resulta em grandes desafios e preocupações quanto aos cuidados de saúde da população (Pulingam *et al.*, 2022).

Os principais microrganismos resistentes envolvidos nas infecções bacterianas são *Enterococcus spp*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp* (Pulingam *et al.*, 2022). Em 2019, *Escherichia coli*, *S. aureus*, *K pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *A. baumannii*, e *P. aeruginosa* foram os seis

patógenos responsáveis pelo maior número de mortes associadas à AMR, cuja estimativa, baseada em modelo preditivo, evidencia mais de 250.000 mortes causadas por cada uma dessas bactérias, em decorrência de mecanismos de resistência (Murray *et al.*, 2022). No Brasil, foi descrita elevada prevalência de cepas resistentes a antibioticoterapia para os patógenos *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, e *Acinetobacter spp* (Pulingam *et al.*, 2022).

Os principais fungos associados às infecções oportunistas são os dos gêneros *Candida*, *Aspergillus* e *Cryptococcus*, dos quais, espécies de *Candida spp.* correspondem à maioria dos casos de origem nosocomial. Estima-se que 150 milhões de pessoas são infectadas e que 1,5 milhão evoluam a óbito anualmente. Estes casos têm emergido em indivíduos com condições de saúde subjacentes ou imunossuprimidos (Ben-Ami & Kontoyiannis, 2021; Perlin *et al.*, 2017; Revie *et al.*, 2018). Além disso, o surgimento de *Candida auris* resistente aos atuais antifúngicos, especialmente a classe dos azóis, decorrente do uso clínico e na agricultura de forma disseminada e descontrolada, tem se tornado um problema global (Ben-Ami & Kontoyiannis, 2021; Revie *et al.*, 2018).

Apesar da prevalência de AMR e microrganismos MDR, as pesquisas voltadas para investigação e desenvolvimento de novas drogas para o tratamento de infecções, não tem acompanhado o surgimento de resistência às drogas atuais (Vale *et al.*, [s.d.]). Assim, as pesquisas envolvendo compostos bioativos de extratos e óleos essenciais de plantas, especialmente metabólitos secundários, tem ganhado destaque como possíveis novas terapias antimicrobianas, assim como alternativas aos tratamentos atuais (Chassagne *et al.*, 2021; Mulat *et al.*, 2019; Oliveira Pereira da Silva & Maria da Rocha Nogueira, 2021). Nesse contexto, alguns bioativos têm demonstrado potencial atividade antimicrobiana, a exemplo dos metabólitos secundários obtidos do óleo essencial de *Zingiber officinale*, os quais demonstraram significativa atividade antibacteriana contra 18 patógenos resistentes, sendo maior a eficácia contra patógenos Gram-negativos MDR, tais como *K. pneumoniae* e *Serratia marcescens* resistentes a polimixina e carbapenêmicos (Vaz *et al.*, 2022).

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais (OE) de *Mentha piperita* e *Citrus limon*, popularmente conhecidas como hortelã-pimenta e limão siciliano respectivamente, tem sido investigada em alguns estudos nas últimas décadas (Mahendran & Rahman, 2020). Estudos com OE de *M. piperita* demonstraram atividade contra algumas espécies de bactérias como *Klebsiella spp.*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella enteritidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, e *Streptococcus pyogenes*, contra *Candida albicans* e outras espécies de fungos (Mahendran & Rahman, 2020; Singh *et al.*, 2015). Pesquisas sobre o potencial antimicrobiano do OE de *C. limon* e de outras espécies do gênero *Citrus* demonstram propriedades antimicrobianas das quais se evidenciou a inibição do crescimento de cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* (Asker *et al.*, 2020; Pires & Piccoli, 2012; Saeb *et al.*, 2016).

Dessa forma, este estudo teve como objetivos revisar a literatura e determinar o potencial da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *M. piperita* e *C. limon* frente aos patógenos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.

2. Metodologia

Desenho do estudo

A pesquisa trata-se de uma revisão sistemática da literatura aliada a um estudo experimental com abordagem quantitativa da ação antimicrobiana de óleos essenciais frente a cepas bacterianas de referência ATCC (*American Type Culture Collection*).

Revisão sistemática

Conforme definição de De-La-Torre-Ugarte-Guanilo, Takahashi e Bertolozzi (2011, p.1261), a revisão sistemática é "uma metodologia rigorosa proposta para: identificar os estudos sobre um tema em questão, aplicando métodos explícitos e

sistematizados de busca; avaliar a qualidade e validade desses estudos, assim como sua aplicabilidade". Com base nesta premissa, a revisão sistemática figura como método útil - embora ainda pouco explorado para as ciências do movimento humano, oferecendo capacidade de síntese e novos direcionamentos (Gomes & Caminha, 2014). Dessa forma, para a seleção de artigos científicos foram utilizadas as bases de dados Pubmed, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Scielo, foram incluídos artigos originais nacionais e internacionais, nos idiomas português, espanhol e inglês, disponíveis *online* em texto completo, de acesso livre e publicados entre janeiro de 2016 e dezembro de 2022. Foram utilizados os descritores “óleos essenciais/essential oils/aceites voláteis”, “atividade antimicrobiana/antimicrobial activity/actividad antimicrobiana”, “*Mentha piperita*” e “*Citrus limon/Cítricos de limón*” acrescidos dos termos booleanos “AND” e “OR”: Foram pesquisadas monografias, dissertações e teses disponíveis *online* em texto completo, publicadas em português no período 2016 a 2022. Para a seleção das fontes, foram consideradas como critérios de inclusão as bibliografias que abordaram a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e conseqüentemente a temática proposta e, assim, foram excluídos os artigos, monografias, dissertações e teses que não apresentaram os critérios estabelecidos inicialmente.

Após a pesquisa dos artigos nas bases de dados, procedeu-se à coleta de dados, conduzida a partir de leitura exploratória do resumo de todo o material selecionado, seguido de leitura seletiva mais aprofundada das publicações. As informações extraídas foram registradas em tabela no programa Excel (*Microsoft for Windows* versão 10, 2016) contendo informações sobre o título, autores, ano de publicação, desenho e local do estudo, principais achados e conclusões.

Determinação da atividade antimicrobiana

Os OE selecionados para este estudo foram *Mentha piperita* e *Citrus limon* adquiridos comercialmente da empresa WNF Indústria e Comércio® Ltda, SP. A atividade antimicrobiana para os OE foi determinada através do método de disco-difusão conforme metodologia preconizada pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) e pelo Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos (BrCAST) a partir dos microrganismos referência *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *C. albicans* ATCC 90028, catalogados em coleções gentilmente cedidas.

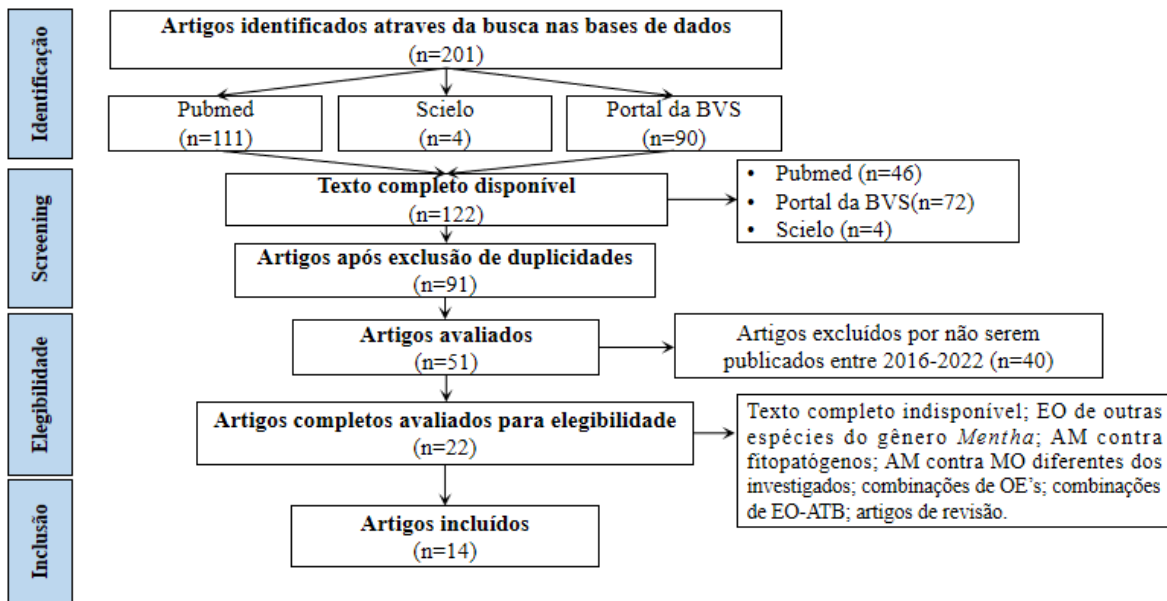
As bactérias foram cultivadas em meio de cultura sólido composto Ágar TSA (Tryptic Soy Agar, Difco®, Ltda) e o fungo em Ágar Sabourad Dextrose (Difco®, Ltda), previamente esterilizados em autoclave e incubadas em estufa bacteriológica, em aerobiose, a 35-37°C, durante 24 horas. Após este período, em capela de fluxo laminar, foram preparadas as suspensões microbianas em tubos contendo 3 mL de solução salina estéril a 0,9% e a turbidez ajustada com a escala padrão de McFarland 0,5 (Cecon®, Ltda). Na sequência, foi realizada semeadura com o auxílio de *swab* estéril em placa contendo ágar Müller-Hinton (Difco®, Ltda) em três direções diferentes. A metodologia consistiu na impregnação de 10 µL de extrato em discos estéreis de papel filtro de 6 mm de diâmetro sobre o meio de cultura sólido já semeado com o microrganismo que se queria testar. A disposição dos discos foi realizada de maneira aleatória, de modo que não houvesse sobreposição. Na mesma placa de Petri foram adicionados como controle negativo, água destilada estéril e como controles positivos, discos de ciprofloxacino (5 µg, Sensifar®) e cefoxitina (30 µg, Sensifar®) para as bactérias e fluconazol (25 µg, Cecon®) para o fungo. As placas de Petri foram inoculadas e incubadas em estufa bacteriológica, em aerobiose, a 35-37°C. Após 18-24 horas, foi realizada a leitura e então os diâmetros dos halos de inibição foram medidos em mm com uso de régua. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados calculados para média e desvio-padrão. A fim de realizar o controle de qualidade dos antimicrobianos, utilizou-se o *guideline* do CLSI (2019) e BrCAST (2023).

3. Resultados

Revisão sistemática da literatura

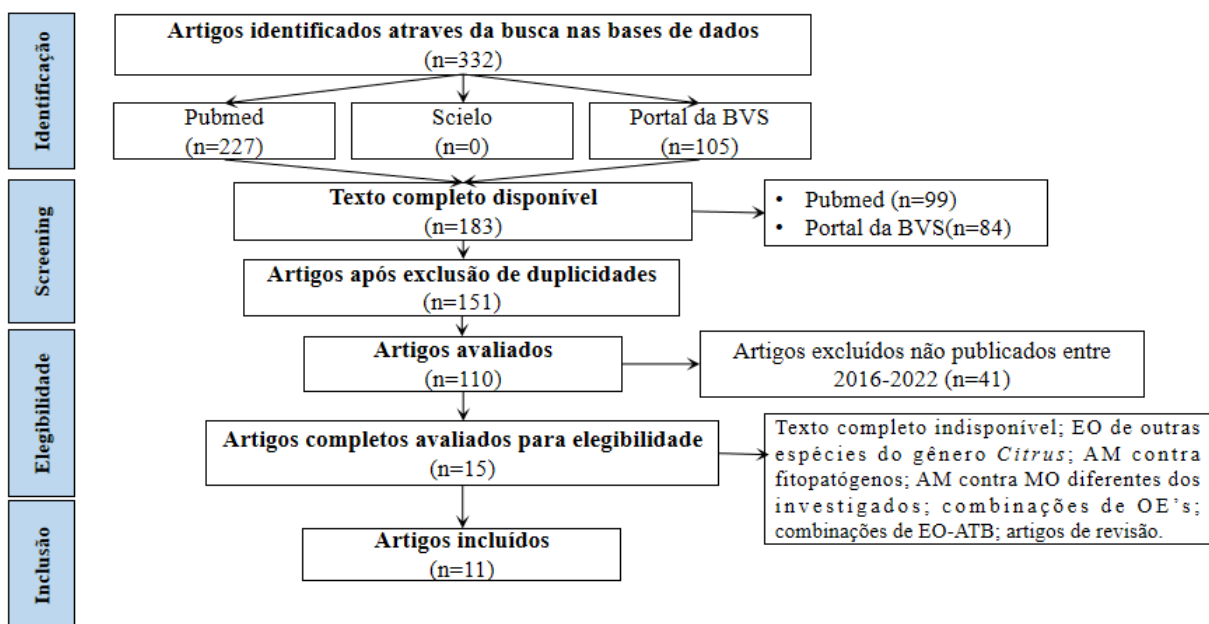
A pesquisa inicial resultou em 533 artigos referentes aos OE de *Mentha piperita* e *Citrus limon*. Deste total, 201 artigos foram referentes ao óleo essencial de *M. piperita*, e 332 referentes ao OE de *C.limon*. Após a etapa de seleção, obtivemos 190 artigos. Após a triagem de títulos e resumos, 113 estudos foram excluídos. A leitura dos textos completos destes artigos resultou na inclusão de 25 artigos para análise. Os diagramas de fluxo completo, contendo as informações sobre as publicações selecionadas, conforme os critérios de inclusão e exclusão estão apresentados nas Figuras 1 e 2.

Figura 1 - Diagrama de fluxo para a seleção dos artigos referentes ao OE de *Mentha piperita*.



Legenda: OE - óleo essencial; AM - atividade antimicrobiana; ATB - antibiótico. Fonte: Autores (2023).

Figura 2 - Diagrama de fluxo para a seleção dos artigos referentes ao óleo essencial de *Citrus limon*.



Legenda: OE - óleo essencial; AM - atividade antimicrobiana; ATB - antibiótico. Fonte: Autores (2023).

Os principais resultados encontrados através da busca bibliográfica sobre o potencial antimicrobiano dos OE de *M.piperita* e *C.limon* são apresentados nos quadros 1 e 2.

Quadro 1 - Descrição dos estudos incluídos na revisão para atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Mentha piperita*.

Local do estudo	Principais achados	Referência
Portugal	O óleo essencial de <i>M. piperita</i> (MPOE) inibiu o crescimento das bactérias <i>E. coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>S. aureus</i> com concentração inibitória mínima de 14 mg/mL através do método de difusão em caldo. Altas concentrações de MPOE formaram os maiores halos no método de disco-difusão em comparação ao método de difusão em caldo. O biocomposto de seda-elastina e MPOE inibiu o crescimento de <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , e <i>S. aureus</i> apresentando um halo inibitório entre 0.88 a 8.09 mm, exceto para <i>P. aeruginosa</i> que foi resistente.	Gomes <i>et al.</i> , 2022
Romênia	O MPOE apresentou boa atividade antimicrobiana contra <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> e <i>Candida parapsilosis</i> , especialmente para as bactérias Gram-positivas. A principal atividade antimicrobiana do MPOE observada foi contra <i>Streptococcus pyogenes</i> , com efeito mínimo contra <i>P. aeruginosa</i> , enquanto que o efeito antifúngico foi significativamente maior para <i>Candida albicans</i> , cuja atividade variou das concentrações de 2,5 µg/mL a 10 µg/mL.	Dolghi <i>et al.</i> , 2022
Sérvia	O MPOE apresentou atividade antimicrobiana contra <i>P. aeruginosa</i> multirresistente isolada de mulheres com infecção vaginal (MIC/MBC 6,25 µL/mL), enquanto a atividade contra outros isolados (<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>C. albicans</i> e <i>Pseudomonas mirabilis</i>) atingiu concentrações mais elevadas (MIC/MBC 25-50 µL/mL). As cepas de <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> apresentaram resistência a todos os antibióticos testados (Estreptomomicina, ampicilina, tetraciclina e cefuroxima).	Bogavac <i>et al.</i> , 2022
Argentina	Espécies de <i>Candida spp.</i> (<i>C. krusei</i> ; <i>C. albicans</i> ; <i>C. glabrata</i> e <i>C. parapsilosis</i>) isoladas de amostras clínicas foram testadas com MPOE. Atividade inibitória foi observada contra <i>C. krusei</i> , enquanto que <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i> apresentaram uma suscetibilidade variável a concentrações entre 0,4 mg/L a 800 mg/L. <i>C. glabrata</i> foi a espécie menos susceptível ao MPOE (MIC 400–800 mg/l). Todos os isolados foram susceptíveis à anfotericina B e a susceptibilidade foi intermediária para <i>C. glabrata</i> .	Córdoba <i>et al.</i> , 2019
Egito	O MPOE exibiu atividade antibacteriana contra <i>S. aureus</i> em uma MBC de 1.36 mg/mL O encapsulamento de MPOE em nanopartículas de Chitosan melhorou as atividades antibacteriana do sistema contra <i>S. aureus</i> , reduzindo o valor de MBC para 1,11 mg/mL. O OE puro de <i>M. piperita</i> apresentou um MBC de 2,72mg/mL, ao passo que o MPOE nano-encapsulado teve uma redução significativa na atividade antimicrobiana contra <i>E. coli</i> , com MBC > 2,72 mg/mL.	Shetta <i>et al.</i> , 2019
Itália	O MPOE exibiu atividade inibitória contra todas as cepas fúngicas isoladas clinicamente (<i>Candida spp.</i> , cepas não- <i>Candida</i> e dermatófitos) comparada aos azóis (fluconazol, itraconazol e cetoconazol). Houve atividade notável contra <i>Cryptococcus neoformans</i> com reduzida MIC e concentração fungicida mínima (MFC) e atividade antimicrobiana fungistática contra dermatófitos e outras cepas não- <i>Candida spp.</i> Houve atividade fungicida contra leveduras do gênero <i>Candida spp.</i> , com mínima atividade contra as espécies <i>C. krusei</i> e <i>C. glabrata</i> . Não houve diferença significativa na concentração inibitória entre cepas resistentes e sensível a azóis, com um valor de MIC similar observada na presença de MPOE.	Tullio <i>et al.</i> , 2011
Romênia	Ensaio antimicrobianos demonstraram que o MPOE apresentou efeito inibitório significativo sobre o crescimento microbiano dos microrganismos testados (<i>E. coli</i> , <i>E. coli</i> produtora de carbapenemase, cepas de <i>P. aeruginosa</i> , cepas de <i>S. aureus</i> , <i>Enterococcus faecium</i> e <i>Candida parapsilosis</i> e MRSA), com uma zona de inibição de 6 a 22 mm e MIC 15.62 a 62.5 µL/mL. A hidroxi-apatita (HAp) não apresentou efeito inibitório sobre o crescimento microbiano. A combinação HAp-MPOE produziu uma zona de inibição menor contra as cepas de <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> . A avaliação dos valores de MIC e MBC demonstraram boa atividade antimicrobiana contra as cepas testadas, na seguinte ordem: <i>P. aeruginosa</i> > <i>C. parapsilosis</i> > <i>E. faecium</i> > <i>E. coli</i> > <i>S. aureus</i> > MRSA. O microrganismo mais sensível às amostras testadas foi <i>C. parapsilosis</i> . Os estudos de citometria de fluxo revelaram atividade contra a membrana microbiana de <i>S. aureus</i> , <i>E. faecium</i> , <i>C. parapsilosis</i> quando tratadas com HAp-MPOE e MPOE em comparação com as amostras do controle, enquanto que contra <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> foi observado apenas para HAp-MPOE.	Badea <i>et al.</i> , 2011
Canadá	O MPOE foi capaz de reduzir o crescimento de leveduras em comparação com o controle anfotericina-B (AmB). Baixas concentrações foram capazes de inibir a proliferação fúngica (1 µL/mL). A concentração de 10 µL/mL apresentou atividade equiparável a 5 µL/mL de AmB. O MPOE foi capaz de inibir significativamente o crescimento de <i>C. albicans</i> , proporcional à concentração do OE, além de reduzir a densidade celular em colônias. Além disso, o MPOE inibiu a formação de tubos germinativos e de biofilmes, e a transição de esporos para hifas. Não foi observado o desenvolvimento de hifas nas diferentes culturas com ou sem OE ou com AmB. O OE demonstrou propriedade de alterar a superfície da parede celular e conteúdo citosólico.	Benzaid <i>et al.</i> , 2019)
Irã	O MPOE apresentou maior atividade antimicrobiana nos ensaios utilizando método de Kirby-Bauer contra os bacilos (<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Bacillus cereus</i>) mesmo em baixas concentrações, e levemente menor contra cepas de <i>S. aureus</i> e <i>Staphylococcus epidermidis</i> , com potencial atividade sobre a integridade da membrana bacteriana.	Heydari <i>et al.</i> , 2011)
Marrocos	O MPOE apresentou atividade contra todos os microrganismos analisados (<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , e <i>Bacillus cereus</i>), exceto <i>P. aeruginosa</i> . <i>Micrococcus luteus</i> e <i>B. subtilis</i> apresentaram elevada sensibilidade em baixa concentração do OE. A concentração de 0,25% (v/v) foi suficiente para interromper o crescimento de <i>S. aureus</i> e <i>B. cereus</i> . MPOE foi mais eficaz contra <i>S. typhimurium</i> com uma MIC de 0,5% (v/v). Por outro lado, a <i>P. aeruginosa</i> foi a menos sensível, sendo inibido por elevadas concentrações (>0,5% v/v). A MBC foi similar ao valor de MIC contra <i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , e <i>M. luteus</i> . O MPOE exibiu um efeito antifúngico contra ambas as cepas de levedura testadas (<i>C. albicans</i> e <i>C. tropicalis</i>), com MIC de 0.062% (v/v), sendo a MFC para <i>C. tropicalis</i> foi quatro vezes maior que MIC.	Marwa <i>et al.</i> , 2017

Polônia	O MPOE em concentrações de 0.0075% e 0.25% reduziu a formação de colônias de <i>Candida spp.</i> Foram observadas alterações morfológicas no crescimento das colônias de <i>C. albicans</i> naquelas tratadas com MPOE, sendo estas associadas a alterações nos perfis proteicos e à redução do número de frações proteicas, além de haver redução da atividade enzimática. As alterações morfológicas observadas em resposta aos OE não foram atribuídas a modificações no DNA cromossômico.	Rajkowska <i>et al.</i> , 2017
Brasil	O MPOE apresentou zona de inibição significativa para <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> , nas concentrações de 100 mg/mL com halo de 7,6±0,57 mm e 10 mg/mL com halo de 9±1,0 mm respectivamente, comparadas ao controle positivo (cefotaxima, oxacilina e gentamicina).	da Silva Ramos <i>et al.</i> , 2017
Irã	O MPOE apresentou atividade antibacteriana contra cepas de <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> , mas em concentrações mais elevadas com MIC de 3,1 µL/mL e 6,3 µL/mL, respectivamente, sendo que o OE apresentou elevada a atividade inibitória na adesão do biofilme, redução da atividade metabólica celular, incluindo aquelas aderentes ao biofilme formado, e biomassa do biofilme, com maior atividade contra <i>S. aureus</i> . O extrato metanólico de <i>M. piperita</i> demonstrou atividade antibacteriana contra ambas bactérias testadas, além da inibição da formação de biofilme.	Bazargani & Rohloff, 2016
Irã	O MPOE demonstrou atividade antimicrobiana dependente da concentração, de forma que o aumento da concentração aumentou significativamente a atividade antibacteriana. O MPOE apresentou baixa atividade contra cepas de <i>E. coli</i> quando em baixas concentrações. Concentrações maiores que 0,2% inibiram em 50% o crescimento bacteriano, sendo que concentrações maiores que 0,8% inibiram o crescimento total das cepas.	Mohammadi <i>et al.</i> , 2016

Legenda: MPOE - Óleo Essencial de *Mentha piperita*; OE- óleo essencial; MIC- Concentração inibitória mínima; MBC- concentração bactericida mínima; CSOE- Óleo essencial de *Camellia sinensis*; MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente à metilina; HAp-MPEO- combinação hidroxiapatita e óleo essencial de *M. piperita*; LC₅₀- Concentração letal 50%; AmB- anfotericina-B; SAP-gene da Secreted Aspartyl Proteinases. Fonte: Autores (2023).

Quadro 2 - Descrição dos estudos incluídos na revisão para atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Citrus limon*.

Local do estudo	Principais achados	Referência
Itália	O óleo essencial de <i>Citrus limon</i> (CLOE) demonstrou uma baixa atividade antimicrobiana contra cepas de <i>E. coli</i> (padrão e isolados clínicos de cães), mas o crescimento bacteriano foi inibido. Foi observada uma correlação inversa entre as diferentes concentrações de CLOE e os números de CFU/mL de cepas de <i>E. coli</i> . O OE inibiu o crescimento bacteriano de cepas de <i>S. aureus</i> . Não foi observado crescimento bacteriano quando se testou o CLOE contra isolados clínicos em concentrações que variavam entre 5% e 40% (v/v). Não foi observado qualquer crescimento bacteriano, independente da concentração de CLOE quando este foi testado contra cepa de referência <i>S. aureus</i> .	Galgano <i>et al.</i> , 2022
Paquistão	O CLOE e o extrato de hexano do <i>C.limon</i> demonstraram potencial atividade contra as cepas bacterianas de <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> . O CLOE apresentou a maior zona de inibição (28.20±0.24 mm) e o menor valor MIC (2.05±0.09 mg/mL) contra <i>E. coli</i> . A atividade contra <i>S. aureus</i> apresentou resultado similar, apresentando um halo de inibição de 28.40±0.22 mm e MIC 2.05±0.10 mg/mL.	Riaz <i>et al.</i> , 2023
Bulgária	O CLOE demonstrou elevada atividade antimicrobiana contra microrganismos saprófitas, bactérias formadoras de esporos, leveduras e fungos. Bactérias Gram-positivas foram mais sensíveis ao OE que as Gram-negativas. Houve atividade contra as cepas <i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>S. aureus</i> ATCC 25923, <i>P. aeruginosa</i> NBIMCC1370 e <i>C. albicans</i> NBIMCC74 em comparação com o grupo controle (ampicilina e nistatina). A maior atividade antimicrobiana foi observada contra <i>C. albicans</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> apresentaram menores halos de inibição.	Denkova-Kostova <i>et al.</i> , 2021
Itália	O CLOE apresentou atividade antibacteriana contra todas as cepas (MRSA, VRE, <i>E. coli</i> produtora de ESBL) em diferentes graus, sendo mais ativo nas cepas de <i>E. coli</i> ESBL com um potencial significativo contra formação do biofilme, quando em concentrações elevadas (> 512 µg/mL). Algumas cepas MRSA e VRE foram sensíveis ao CLOE. A eficácia do CLOE contra o biofilme formado pelas cepas resistentes aos antibióticos (MRSA) foi comparável à dos antibióticos de referência.	Iseppi <i>et al.</i> , 2021
Argentina	CLOE inibiu a produção específica de biofilme das cepas de <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853 e HT5 multiresistente), assim como o metabolismo bacteriano em biofilmes, ambos de forma dose dependente. O CLOE inibiu a produção de biofilme da cepa ATCC 27853 em 29-43%, enquanto o biofilme produzido pela cepa HT5 foi reduzido em 23-47%, em uma concentração de 0,1 mg/mL a 4 mg/mL. Nenhuma ou pouca atividade sobre o biofilme do limoneno, quando utilizado isoladamente, foi observada. O CLOE também reduziu a produção de plicianina e elastase, e formação de pigmentos em ambas as cepas. O CLOE inibiu a motilidade bacteriana de ambas as cepas, mas na concentração mais elevada testada para cepa ATCC 27853.	Luciardi <i>et al.</i> , 2021
Eslováquia	O CLOE mostrou uma atividade contra todas as espécies do gênero <i>Staphylococcus spp.</i> isoladas de sêmen humano, sendo a melhor atividade antimicrobiana observada contra <i>S. capitis</i> cujo halo de inibição foi 12.67 ± 1.15 mm. A MIC contra <i>S. aureus</i> foi 3.12µL/mL, sendo observado um halo médio de 10.67 ± 1.15 mm.	Kačaniová <i>et al.</i> , 2020
Espanha	O CLOE inibiu o crescimento de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> e <i>C. albicans</i> em comparação ao controle (gentamicina e clotrimazol), sendo observados apenas discretos halos de inibição contra <i>P. aeruginosa</i> . Os resultados antimicrobianos obtidos com a utilização de lipossomas foram semelhantes, sendo que o lipossoma contendo citral apresentou maior atividade contra as cepas avaliadas. A MIC e a MBC contra a <i>P. aeruginosa</i> foram as mesmas para as soluções de CLOE e para o lipossoma de CLOE. As soluções de CLOE foram ativas em concentrações mais baixas do que as encontradas para os lipossomas. A CIM e a MFC contra <i>C. albicans</i> foram semelhantes tanto na solução de OE como no lipossoma CLOE.	Usach <i>et al.</i> , 2020
Romênia	A suspensão micelar de CLOE (MiOE) apresentou melhor atividade antimicrobiana, enquanto o extrato aquoso de CLOE (AqOE) mostrou uma atividade bacteriostática e bactericida	Man <i>et al.</i> , 2019

	inferior, além da MiOE apresentar menores valores MIC e MBC que o AqOE. As bactérias mais susceptíveis foram a MSSA e a MRSA, seguidas da <i>Enterococcus faecalis</i> . MRSA foi mais suscetível ao MiOE e menos a AqOE comparada a MSSA, mas com diferenças insignificantes. <i>P. aeruginosa</i> apresentou um perfil de resistência sensível a MiOE.	
Sérvia	O CLOE apresentou atividades inibitória do crescimento e fungicida contra <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> e <i>C. glabrata</i> , em baixas concentrações. <i>C. glabrata</i> foi a levedura mais susceptível.	Perić <i>et al.</i> , 2019
Polônia	O CLOE exibiu atividade fungistática e fungicida, em baixa concentração contra isolados clínicos de <i>C. albicans</i> e <i>C. glabrata</i> , sem efeito nas membranas celulares e no efluxo e potássio, mas com inibição da transição da levedura para a forma de micélio e potencial ligação ao ergosterol.	Gucwa <i>et al.</i> , 2018
Irã	O CLOE mostrou uma atividade antibacteriana significativamente contra <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , and <i>B. subtilis</i> , sendo a atividade mais elevada contra bactérias Gram-positivas, como <i>S. aureus</i> e <i>B. subtilis</i> , do que contra bactérias Gram-negativas, como <i>E. coli</i> e <i>Salmonella typhi</i> . O OE não apresentou nenhuma atividade contra <i>S. typhi</i>	Saeb <i>et al.</i> , 2016

Legenda – CLOE: Óleo essencial de *Citrus limon*; CFU: Unidades formadoras de colônia; MIC: concentração inibitória mínima; MBC: concentração bactericida mínima; ESBL: Beta-lactamase de espectro estendido; MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina; MSSA: *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina; VRE: *Enterococcus* resistente a vancomicina; MiOE: Suspensão micelar do óleo essencial de *Citrus limon*; AqOE: Extrato aquoso do óleo essencial de *Citrus limon*. Fonte: Autores (2023).

Análise da composição química

O perfil cromatográfico da composição fitoquímica dos OE de *M. piperita* e *C.limon*, obtido através da técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrofotometria de Massa (CG/MS), foi fornecido pela empresa WNF. Para o OE de *M. piperita*, há a presença de mentol, mentona, acetato de mentila, 1,8-cineol e isomentona como principais componentes obtidos do OE da folha dessa planta (WNF, s.d.-a) e para o OE de *C.limon*, há a presença de limoneno, b-pineno, e g-terpineno como principais componentes do OE obtido da casca (WNF, s.d.-b). Os dados foram fornecidos pela empresa WNF®.

Atividade antimicrobiana

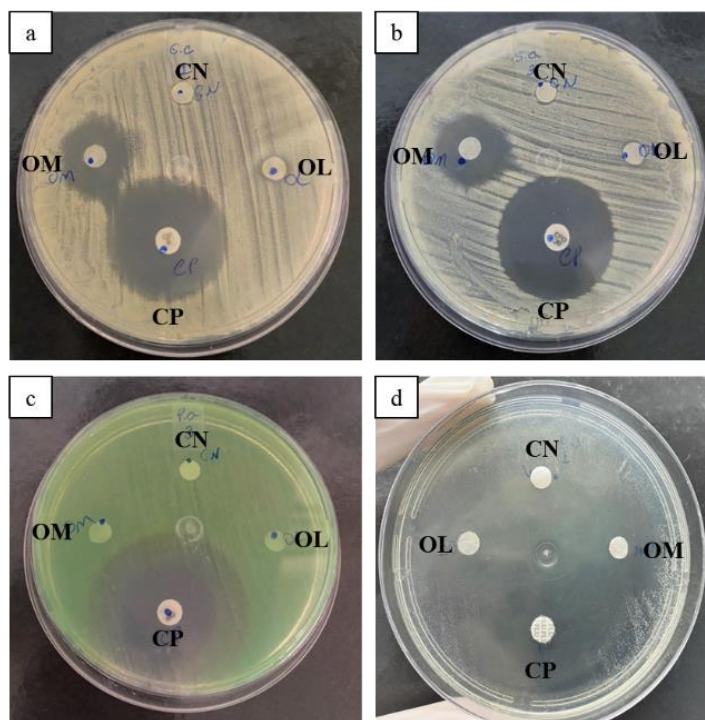
A tabela 1 apresenta os resultados do experimento com a utilização dos óleos essenciais de *M. piperita* e *C.limon* com as cepas referência de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *C. albicans*. O óleo essencial de *M. piperita* apresentou atividade antimicrobiana para as cepas dos microrganismos *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans*; ao passo que o óleo essencial de *C.limon* apresentou atividade antimicrobiana apenas para *C. albicans*. Nenhum dos OE apresentou atividade contra *P. aeruginosa*. A figura 3 ilustra, através de imagens, os halos de sensibilidade dos OE frente às cepas referência testadas. O resultado dos controles apresentou-se em conformidade com as normas estabelecidas pelo CLSI e BrCAST.

Tabela 1 - Susceptibilidade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Mentha piperita* e *Citrus limon* frente aos microrganismos referência *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.

Microrganismo referência	CP (mm)	CN (mm)	OL (mm)	OM (mm)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	29 ± 0,82	6 ± 0	6,33 ± 0,47	17,33±1,25
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	29 ± 1,4	6 ± 0	6,6 ± 0,5	15,6 ±2,6
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	25± 0,82	6 ± 0	6 ± 0	6 ± 0
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	32± 0	6 ± 0	10 ± 2,83	26 ± 1,63

Legenda: OL – óleo essencial de *Citrus limon*; OM – óleo essencial de *Mentha piperita*; CP – controle positivo (ciprofloxacino para *E.coli* e *P.aeruginosa*; cefoxitina para *S.aureus* e fluconazol para *C.albicans*); CN – controle negativo (água destilada estéril); ± Desvio padrão. Fonte: Autores (2023).

Figura 3 - Imagens do experimento de susceptibilidade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Mentha piperita* e *Citrus limon* frente aos microrganismos referência *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* pelo método Disco-difusão.



Legenda: a - *E. coli* ATCC 25922; b - *S. aureus* ATCC 25923; c - *P. aeruginosa* ATCC 27853; d - *C. albicans* ATCC 90028; OL – óleo essencial de *C.limon*; OM – óleo essencial de *M. piperita*; CP – controle positivo (ciprofloxacino para *E.coli* e *P.aeruginosa*; cefoxitina para *S.aureus* e fluconazol para *C.albicans*); CN – controle negativo (água destilada estéril). Fonte: Autores (2023).

4. Discussão

Neste estudo foram utilizados os óleos essenciais de *Mentha piperita* (MPOE) e *Citrus limon* (CLOE) frente a uma bactéria Gram positiva, duas Gram negativas e um fungo leveduriforme, todos de importância clínica. Das quatro cepas avaliadas, todas apresentaram halos de inibição para os dois óleos essenciais testados, cujos diâmetros variaram entre as espécies e os tipos de óleo. A maior inibição foi determinada para o MPOE, que apresentou atividade frente a bactérias e fungo, enquanto que o CLOE exibiu atividade para o fungo.

Estudo realizado por Singh et al. (2015) comparou a atividade antimicrobiana do MPOE contra cepas de *S. aureus* e *E.coli* frente à gentamicina, demonstrando maior efetividade do OE contra bactérias Gram-positivas do que Gram-negativas. Soković e colaboradores (2010) avaliaram MPOE contra as cepas *E. coli* e *P. aeruginosa* além de *S. aureus*, e identificaram ação antimicrobiana superior ao antibiótico estreptomicina, com concentração inibitória mínima (MIC) de 1.0–3.0 µg/mL e concentração bactericida mínima (MBC) de 1.5–5.0 µg/mL. İşcan e colaboradores (2002) também demonstraram efeito tanto do MPOE quanto dos componentes do OE (mentol e mentona) contra essas cepas, sendo o valor de MIC de 0.625–5.0 mg/mL. Dessa forma, observa-se que o nosso trabalho apresenta resultados similares quanto à ação antimicrobiana do MPOE contra as cepas de *S. aureus* e *E. coli*. Em contrapartida, nosso estudo não identificou atividade contra *P. aeruginosa*. Estas diferenças podem ser devido às variações nas concentrações do OE, bem como dos seus fitoconstituintes, além de diferenças metodológicas.

Alguns estudos têm avaliado além da ação antimicrobiana, a inibição da formação de biofilme. Saharkhiz e colaboradores (2012) demonstraram que o MPOE inibiu completamente a formação de biofilme das cepas sensíveis de *C. albicans* isoladas clinicamente, sendo que estas não apresentaram diferença daquelas resistentes a azóis. Mimica-Dukić e

colaboradores (2003) também demonstraram propriedades antifúngicas contra *C. albicans*, onde o MPOE apresentou atividade fungistática e fungicida comparada ao bifonazol, mas com menores valores de concentração fungicida mínima (MFC) e MIC. Samber e colaboradores (2015) determinaram atividade anti-*Candida* tanto do OE quanto dos componentes mentol e carvona, e evidenciaram atividade celular inibitória e danosa do OE, as quais incluem dano a membrana celular, extravasamento do conteúdo intracelular e inibição da síntese de ergosterol e da bomba H⁺/ATPase. Os resultados do nosso estudo também identificaram o potencial inibitório do MPOE contra cepas de *C. albicans* e embora não tenha sido realizado o teste para avaliação da ação em biofilme, é possível que haja atividade inibitória.

O estudo de Soković e colaboradores (2010) também avaliou a atividade antimicrobiana do CLOE contra as cepas de *S. aureus*, *E. coli*, sendo observado efeito bacteriostático e bactericida com MIC de 6.0 µg/mL e 7.5 µg/mL e MBC de 6.0 µg/mL e 8.0 µg/mL, respectivamente. Para cepas de *P. aeruginosa*, não foi evidenciada nenhuma atividade. Os autores também destacaram a fraca atividade antibacteriana do limoneno e β-pineno quando utilizados isoladamente. Hojjati & Barzegar (2017) evidenciaram que o CLOE não exibiu atividade antibacteriana contra cepas de *S. aureus* e *E. coli* em concentrações baixas (0,025 - 0.1 mg/mL), mas foi observada ação em concentrações superiores a 0,2mg/mL. O máximo efeito foi identificado em concentração de 10mg/mL, porém com elevado MIC para o efeito antibacteriano (>50mg/mL). Luciardi e colaboradores (2021) reportaram que CLOE inibiu a produção de biofilme de duas cepas de *P. aeruginosa* (ATCC 27853 e HT5 multirresistente), assim como o metabolismo bacteriano em biofilmes, a motilidade e a produção do pigmento piocianina de forma dose dependente. Nesse contexto, nossos resultados divergem quanto à atividade antibacteriana do CLOE reportados na literatura para os patógenos testados. Estas diferenças podem decorrer devido a variações metodológicas, das concentrações e composição química do OE testado.

A interpretação dos resultados obtidos a partir do teste de disco-difusão da atividade antifúngica do CLOE contra cepas de *C. albicans* em nossa pesquisa condiz com os estudos descritos na literatura. Ezzat (2001) revelou que o CLOE possuía intensa atividade antifúngica contra cepas de *C. albicans*. Prabajati et al. (2017) evidenciaram que o CLOE em concentrações de 1,56% e 1,38% resulta em alterações do tamanho celular e da parede celular de cepas de *C. albicans*. Radithia e colaboradores (2022) avaliaram a atividade do CLOE em modelo in vivo de ferida em mucosa, cujo trabalho revelou que o OE de *C.limon* em concentração de 1,56% causa alteração na morfologia e na proliferação celular de *C. albicans*, inibe a formação e promove a degradação da camada de biofilme formada induzindo o seu desaparecimento.

Concomitante ao efeito antimicrobiano isolado observado dos OE, estudos tem demonstrado efeito sinérgico dos OE quando combinado a antibióticos. Yap e colaboradores (2013) demonstraram esse efeito a partir da combinação entre MPOE e piperacilina e meropenem contra cepa de *E. coli* multirresistente induzida por plasmídeo. A atividade desses antibióticos foi aumentada, sendo as concentrações necessárias reduzidas (piperacilina - MIC 64 g/mL e meropenem - 0.5 g/mL) quando comparada as drogas sozinhas (piperacilina - MIC 1024 g/mL e meropenem - 4.0 g/mL, respectivamente). Samber e colaboradores (2015) também evidenciaram o efeito sinérgico da associação MPOE, mentol e carvona com fluconazol, tanto para cepas sensíveis quanto resistentes a azóis. Tullio e colaboradores (2019) reportaram que a combinação MPOE e azóis (itraconazol, fluconazol e cetoconazol) potencializa o efeito contra cepas de *C. albicans* e outras cepas do gênero *Candida spp*.

Embora as concentrações dos óleos testados neste estudo não tenham sido disponibilizadas, sugere-se que os seus valores atingiram a MIC necessária para que resultasse na formação dos halos de inibição das cepas nas quais os OE apresentaram atividade.

5. Conclusão

De acordo com os dados deste estudo, demonstrou-se que os óleos essenciais de *M. piperita* e *C.limon* apresentam atividade antimicrobiana *in vitro*, destacando-se *M. piperita* frente às cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans* e *C.limon* frente

à cepa de *C. albicans*. Estes achados evidenciam o potencial antimicrobiano dos fitoconstituintes destes óleos e fortalecem a pesquisa experimental com os produtos de origem natural com finalidade medicinal.

Dessa forma, este estudo será utilizado como base para pesquisas futuras que permitam investigar a efetividade destes óleos frente a outros patógenos que tem emergido dos casos de infecções em humanos, incluindo aqueles de origem alimentar e destaca a importância de novos estudos em modelos experimental e humano para compreender as suas aplicabilidades como opção terapêutica natural e segura para o controle de doenças bacterianas e fúngicas, os mecanismos de ação pelos quais apresentam atividade e, então contribuir para o desenvolvimento de formas farmacêuticas alternativas.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela concessão de bolsa de iniciação científica.

Referências

- Asker, M., El-gengaihi, S. E., Hassan, E. M., Mohammed, M. A., & Abdelhamid, S. A. (2020). Phytochemical constituents and antibacterial activity of Citrus lemon leaves. *Bulletin of the National Research Centre* 2020 44:1, 44(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/S42269-020-00446-1>
- Badea, M. L., Iconaru, S. L., Groza, A., Chifiriuc, M. C., Beuran, M., & Predoi, D. (2019). Peppermint Essential Oil-Doped Hydroxyapatite Nanoparticles with Antimicrobial Properties. *Molecules*, 24(11), 2169. <https://doi.org/10.3390/molecules24112169>
- Bazargani, M.M., & Rohloff, J. (2016). Antibiofilm activity of essential oils and plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* biofilms. *Food Control*, 61, 156-164.
- Ben-Ami, R., & Kontoyiannis, D. P. (2021). Resistance to Antifungal Drugs. *Infectious Disease Clinics of North America*, 35(2), 279–311. <https://doi.org/10.1016/J.IDC.2021.03.003>
- Benzaid, C., Belmadani, A., Djeribi, R., & Rouabhia, M. (2019). The Effects of Mentha × piperita Essential Oil on *C. albicans* Growth, Transition, Biofilm Formation, and the Expression of Secreted Aspartyl Proteinases Genes. *Antibiotics*, 8(1), 10. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8010010>
- Bogavac, M. A., Perić, T. M., Mišković, J., & Karaman, M. (2022). Antimicrobial and Toxic Effects of Boswellia serrata Roxb. and Mentha piperita Linn. Essential Oils on Vaginal Inhabitants. *Medicines*, 9(12), 62. <https://doi.org/10.3390/medicines9120062>
- Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, BrCAST. Comitê Brasileiro de Teste de Sensibilidade aos Antimicrobianos. (2023). <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>
- Chassagne, F., Samarakoon, T., Porras, G., Lyles, J. T., Dettweiler, M., Marquez, L., Salam, A. M., Shabih, S., Farrokhi, D. R., & Quave, C. L. (2021). A Systematic Review of Plants With Antibacterial Activities: A Taxonomic and Phylogenetic Perspective. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 2069. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2020.586548/BIBTEX>
- Clinical Laboratory Standards Institute, CLSI. (2019). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100, 29th edition. Wayne, PA. USA.
- Córdoba, S., Vivot, W., Szusz, W., & Albo, G. (2019). Antifungal Activity of Essential Oils Against Candida Species Isolated from Clinical Samples. *Mycopathologia*, 184(5), 615–623. <https://doi.org/10.1007/s11046-019-00364-5>
- da Silva Ramos, R., Rodrigues, A. B. L., Farias, A. L. F., Simões, R. C., Pinheiro, M. T., Ferreira, R. M. dos A., Costa Barbosa, L. M., Picanço Souto, R. N., Fernandes, J. B., Santos, L. da S., & de Almeida, S. S. M. da S. (2017). Chemical Composition and In vitro Antioxidant, Cytotoxic, Antimicrobial, and Larvicidal Activities of the Essential Oil of Mentha piperita L. (Lamiaceae). *The Scientific World Journal*, 2017, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2017/4927214>
- Denkova-Kostova, R., Teneva, D., Tomova, T., Goranov, B., Denkova, Z., Shopka, V., Slavchev, A., & Hristova-Ivanova, Y. (2021). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (Citrus reticulata L.), grapefruit (Citrus paradisi L.), lemon (Citrus lemon L.) and cinnamon (Cinnamomum zeylanicum Blume). *Zeitschrift für Naturforschung C*, 76(5–6), 175–185. <https://doi.org/10.1515/znc-2020-0126>
- Dhingra, S., Rahman, N. A. A., Peile, E., Rahman, M., Sartelli, M., Hassali, M. A., Islam, T., Islam, S., & Haque, M. (2020). Microbial Resistance Movements: An Overview of Global Public Health Threats Posed by Antimicrobial Resistance, and How Best to Counter. *Frontiers in Public Health*, 8, 531. <https://doi.org/10.3389/FPUBH.2020.535668/BIBTEX>
- Dolghi, A., Coricovac, D., Dinu, S., Pinzaru, I., Dehelean, C. A., Grosu, C., Chioran, D., Merghes, P. E., & Sarau, C. A. (2022). Chemical and Antimicrobial Characterization of Mentha piperita L. and Rosmarinus officinalis L. Essential Oils and In vitro Potential Cytotoxic Effect in Human Colorectal Carcinoma Cells. *Molecules*, 27(18), 6106. <https://doi.org/10.3390/molecules27186106>
- Ezzat, S. M. (2001). In vitro inhibition of Candida albicans growth by plant extracts and essential oils. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(7), 757–759. <https://doi.org/10.1023/A:1012934423019>
- Galgano, M., Capozza, P., Pellegrini, F., Cordisco, M., Sposato, A., Sblano, S., Camero, M., Lanave, G., Fracchiolla, G., Corrente, M., Cirone, F., Trotta, A., Tempesta, M., Buonavoglia, D., & Pratelli, A. (2022). Antimicrobial Activity of Essential Oils Evaluated In vitro against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. *Antibiotics*, 11(7), 979. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070979>

- Gomes, D. S., da Costa, A., Pereira, A. M., Casal, M., & Machado, R. (2022). Biocomposites of Silk-Elastin and Essential Oil from *Mentha piperita* Display Antibacterial Activity. *ACS Omega*, 7(8), 6568–6578. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05704>
- Gomes, I. S. & Caminha, I. O. (2014). Guia para estudos de revisão sistemática: uma opção metodológica para as Ciências do Movimento Humano. *Movimento*. 20 (1), 395-411.
- Gucwa, K., Milewski, S., Dymerski, T., & Szveda, P. (2018). Investigation of the Antifungal Activity and Mode of Action of *Thymus vulgaris*, *Citrus limonum*, *Pelargonium graveolens*, *Cinnamomum cassia*, *Ocimum basilicum*, and *Eugenia caryophyllus* Essential Oils. *Molecules*, 23(5), 1116. <https://doi.org/10.3390/molecules23051116>
- Heydari, M., Zanfardino, A., Taleei, A., Bushehri, A. A. S., Hadian, J., Maresca, V., Sorbo, S., Napoli, M. Di, Varcamonti, M., Basile, A., & Rigano, D. (2018). Effect of Heat Stress on Yield, Monoterpene Content and Antibacterial Activity of Essential Oils of *Mentha x piperita* var. Mitcham and *Mentha arvensis* var. piperascens. *Molecules*, 23(8), 1903. <https://doi.org/10.3390/molecules23081903>
- Hojjati, M., & Barzegar, H. (2017). Chemical Composition and Biological Activities of Lemon (*Citrus limon*) Leaf Essential Oil. *Nutrition and Food Sciences Research*, 4(4), 15–24. <https://doi.org/10.29252/nfsr.4.4.3>
- Huemer, M., Shambat, S. M., Brugger, S. D., & Zinkernagel, A. S. (2020). Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO reports*, 21(12), e51034. <https://doi.org/10.15252/EMBR.202051034>
- Iseppi, R., Mariani, M., Condò, C., Sabia, C., & Messi, P. (2021). Essential Oils: A Natural Weapon against Antibiotic-Resistant Bacteria Responsible for Nosocomial Infections. *Antibiotics*, 10(4), 417. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040417>
- Kačaniová, M., Terentjeva, M., Štefániková, J., Žiarovská, J., Savitskaya, T., Grinshpan, D., Kowalczewski, P. Ł., Vukovic, N., & Tvrdá, E. (2020). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Selected Essential Oils against *Staphylococcus* spp. Isolated from Human Semen. *Antibiotics*, 9(11), 765. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110765>
- Luciardi, M. C., Blázquez, M. A., Alberto, M. R., Cartagena, E., & Arena, M. E. (2021). Lemon Oils Attenuate the Pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* by Quorum Sensing Inhibition. *Molecules*, 26(10), 2863. <https://doi.org/10.3390/molecules26102863>
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, *et al.*. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* (2012) 18:268–81. 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
- Mahendran, G., & Rahman, L. U. (2020). Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha x piperita* L.)-A review. *Phytotherapy research PTR*, 34(9), 2088–2139. <https://doi.org/10.1002/PTR.6664>
- Man, A., Santacroce, L., Iacob, R., Mare, A., & Man, L. (2019). Antimicrobial Activity of Six Essential Oils Against a Group of Human Pathogens: A Comparative Study. *Pathogens*, 8(1), 15. <https://doi.org/10.3390/pathogens8010015>
- Marwa, C., Fikri-Benbrahim, K., Ou-Yahia, D., & Farah, A. (2017). African peppermint (*Mentha piperita*) from Morocco: Chemical composition and antimicrobial properties of essential oil. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 8(3), 86–90. https://doi.org/10.4103/japtr.JAPTR_11_17
- Mimica-Dukić, N., Božin, B., Soković, M., Mihajlović, B., & Matavulj, M. (2003). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Three *Mentha* Species Essential Oils. *Planta Medica*, 69(5), 413–419. <https://doi.org/10.1055/s-2003-39704>
- Mohammadi, A., Hashemi, M., & Hosseini, M. (2016). Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Cinnamomum zeylanicum*, *Mentha piperita*, *Zataria multiflora* Boiss and *Thymus vulgaris* Against Pathogenic Bacteria. *Medical Laboratory Journal*, 10(2), 32–40. <https://doi.org/10.18869/acadpub.mLj.10.2.32>
- Mulat, M., Pandita, A., & Khan, F. (2019). Medicinal Plant Compounds for Combating the Multi-drug Resistant Pathogenic Bacteria: A Review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 20(3), 183–196. <https://doi.org/10.2174/1872210513666190308133429>
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashaf Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., & Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Oliveira Pereira da Silva, L., & Maria da Rocha Nogueira, J. (2021). Resistência bacteriana: potencial de plantas medicinais como alternativa para antimicrobianos Bacterial resistance: potential of medicinal plants as an antimicrobial alternative. 53(1), 21–27. <https://doi.org/10.21877/2448-3877.202002033>
- Perić, M., Rajković, K., Milić Lemić, A., Živković, R., & Arsić Arsenijević, V. (2019). Development and validation of mathematical models for testing antifungal activity of different essential oils against *Candida* species. *Archives of Oral Biology*, 98, 258–264. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.11.029>
- Pires, T. C., & Piccoli, R. H. (2012). Efeito inibitório de óleos essenciais do gênero *Citrus* sobre o crescimento de micro-organismos. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 71(2), 378–385. <https://doi.org/10.53393/RIAL.2012.V71.32438>
- Prabjati, R., Hernawan, I., & Hendarti, H. T. (2017). Effects of *Citrus limon* essential oil (*Citrus limon* L.) on cytomorphometric changes of *Candida albicans*. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 50(1), 43. <https://doi.org/10.20473/j.djmk.v50.i1.p43-48>
- Pulingam, T., Parumasivam, T., Gazzali, A. M., Sulaiman, A. M., Chee, J. Y., Lakshmanan, M., Chin, C. F., & Sudesh, K. (2022). Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 170. <https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2021.106103>
- Radithia, D., Tanjungsari, R., Ernawati, D. S., & Parmadiati, A. E. (2023). The effectiveness of essential oil from *Citrus limon* peel on *Candida albicans* biofilm formation: An experimental in vivo study. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 18(1), 190–195. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2022.07.011>

- Rajkowska, K., Otlewska, A., Kunicka-Styczyńska, A., & Krajewska, A. (2017). *Candida albicans* Impairments Induced by Peppermint and Clove Oils at Sub-Inhibitory Concentrations. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1307. <https://doi.org/10.3390/ijms18061307>
- Revie, N. M., Iyer, K. R., Robbins, N., & Cowen, L. E. (2018). Antifungal Drug Resistance: Evolution, Mechanisms and Impact. *Current opinion in microbiology*, 45, 70. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2018.02.005>
- Riaz, M., Qadir, R., Tahir Akhtar, M., Misbah ur Rehman, M., Anwar, F., Eman, R., Fayyaz ur Rehman, M., & Safwan Akram, M. (2023). Chemical Characterization, Antioxidant, Antimicrobial, Cytotoxicity and *in Silico* Studies of Hexane Extract and Essential Oils from *Citrus limon* Leaves. *Chemistry & Biodiversity*, 20(1). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200537>
- Saeb, S., Amin, M., Gooybari, R. S., & Aghel, N. (2016). Evaluation of Antibacterial Activities of *Citrus limon*, *Citrus reticulata*, and *Citrus grandis* Against Pathogenic Bacteria. *International Journal of Enteric Pathogens*, 4(4), 3–37103. <https://doi.org/10.15171/IJEP.2016.13>
- Saharkhiz, M. J., Motamedi, M., Zomorodian, K., Pakshir, K., Miri, R., & Hemyari, K. (2012). Chemical Composition, Antifungal and Antibiofilm Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita* L. *ISRN Pharmaceutics*, 2012, 1–6. <https://doi.org/10.5402/2012/718645>
- Samber, N., Khan, A., Varma, A., & Manzoor, N. (2015). Synergistic anti-candidal activity and mode of action of *Mentha piperita* essential oil and its major components. *Pharmaceutical Biology*, 53(10), 1496–1504. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.989623>
- Shetta, A., Kegere, J., & Mamdouh, W. (2019). Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 731–742. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.161>
- Singh, R., Shushni, M. A. M., & Belkheir, A. (2015). Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*, 8, 322–328. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.01.019>
- Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P. D., Brkić, D., & Griensven, L. J. L. D. van. (2010). Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an *In vitro* Model. *Molecules*, 15(11), 7532–7546. <https://doi.org/10.3390/molecules15117532>
- Tullio, V., Roana, J., Scalas, D., & Mandras, N. (2019). Evaluation of the Antifungal Activity of *Mentha x piperita* (Lamiaceae) of Pancalieri (Turin, Italy) Essential Oil and Its Synergistic Interaction with Azoles. *Molecules*, 24(17), 3148. <https://doi.org/10.3390/molecules24173148>
- Usach, I., Margarucci, E., Manca, M. L., Caddeo, C., Aroffu, M., Petretto, G. L., Manconi, M., & Peris, J.-E. (2020). Comparison between Citral and Pompia Essential Oil Loaded in Phospholipid Vesicles for the Treatment of Skin and Mucosal Infections. *Nanomaterials*, 10(2), 286. <https://doi.org/10.3390/nano10020286>
- Vale, O., Machado, O., Cláudio, M., Patrocínio, A., Medeiros, M. S., De, T., Pinheiro, J., & Bandeira, G. ([s.d.]). *Antimicrobianos revisão geral para graduandos e generalistas*. www.graficalcr.com.br
- Vaz, M. S. M., Simionatto, E., de Almeida de Souza, G. H., Fraga, T. L., de Oliveira, G. G., Coutinho, E. J., Oliveira dos Santos, M. V., & Simionatto, S. (2022). Zingiber officinale Roscoe essential oil: An alternative strategy in the development of novel antimicrobial agents against MDR bacteria. *Industrial Crops and Products*, 185, 115065. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2022.115065>
- WHO, W. H. O. (2021). *Antimicrobial resistance*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- WNF, World's Natural Fragrances. ([s.d.]-a). *Perfil Cromatográfico Analítico do OE de Hortelã-pimenta (Mentha piperita)*. Recuperado 16 de agosto de 2023, de www.wnf.com.br
- WNF, World's Natural Fragrances. ([s.d.]-b). *Perfil Cromatográfico Analítico do OE Limão-Siciliano (Citrus limon)*. Recuperado 16 de agosto de 2023, de www.wnf.com.br
- Yap, P. S. X., Lim, S. H. E., Hu, C. P., & Yiap, B. C. (2013). Combination of essential oils and antibiotics reduce antibiotic resistance in plasmid-conferred multidrug resistant bacteria. *Phytomedicine*, 20(8–9), 710–713. <https://doi.org/10.1016/J.PHYMED.2013.02.013>