



KAROLINE MARIA IANISKI

**AVALIAÇÃO *in vitro* DA CAPACIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS COMERCIAIS DE *Eucalyptus globulus* e *Ocimum basilicum* L
SOBRE AS ESPÉCIES DE *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e
*Candida albicans***

**GUARAPUAVA
2019**

KAROLINE MARIA IANISKI

**AVALIAÇÃO *in vitro* DA CAPACIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS COMERCIAIS DE *Eucalyptus globulus* e *Ocimum basilicum* L
SOBRE AS ESPÉCIES DE *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e
*Candida albicans***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Banca Avaliadora, para obtenção do grau de
Bacharela em Biomedicina.

Orientadora: Prof.^a Me. Rubia Bonapaz.

**GUARAPUAVA
2019**

LISTA DE QUADROS E FIGURAS

TABELA

	PÁG.
1 Atividade antimicrobiana – Média do diâmetro do halo (mm) e desvio padrão (DP) dos óleo essencial de <i>Eucalyptus globulus</i> e <i>Ocimum basilicum</i> sobre <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>Candida albicans</i> .	11

FIGURA

	PÁG.
A Ilustrações do teste de sensibilidade de <i>S. aureus</i> do óleo essencial de <i>Eucalypto globulus</i> pelo método de disco difusão	12
B Ilustrações do teste de sensibilidade de <i>E. coli</i> do óleo essencial de <i>Eucalypto globulus</i> pelo método de disco difusão	12
C Ilustrações do teste de sensibilidade da <i>Candida albicans</i> do óleo essencial de <i>Eucalypto globulus</i> pelo método de disco difusão	12
D Ilustrações do teste de sensibilidade de <i>S. aureus</i> do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> pelo método de disco difusão	12
E Ilustrações do teste de sensibilidade de <i>E. coli</i> do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> pelo método de disco difusão	12
F Ilustrações do teste de sensibilidade da <i>Candida albicans</i> do óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> pelo método de disco difusão	12

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Et.al	E outros
%	Por cento
µL	Microlitros
µg	Micrograma
mm	Milímetros
mL	Mililitros
°C	Graus Celsius
CMI	Concentração mínima inibitória
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
OE	Óleo essencial

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	7
2. MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS	9
2.2 MICRORGANISMO	9
2.3 TESTE DE DISCO-DIFUSÃO	9
3. RESULTADOS	10
4. DISCUSSÃO	13
5. CONCLUSÃO	14
6. REFERÊNCIAS	15

AVALIAÇÃO *in vitro* DA CAPACIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS COMERCIAIS DE *Eucalyptus globulus* e *Ocimum basilicum* L SOBRE AS ESPÉCIES DE *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*

IANISKI, Karoline Maria¹ (Campo Real)
BONAPAZ, Rubia² (Campo Real)

RESUMO

O uso das plantas medicinais vem sendo utilizada há muitos anos para cura de diversas doenças. A utilização inadequada de antibióticos faz com que as bactérias se tornem resistentes, além de seu uso para tratamento de infecções, também é utilizado produtos naturais para fins terapêuticos. Com isso o objetivo do presente trabalho foi analisar o efeito antimicrobiano de quatro diferentes marcas de óleo essencial de Eucalipto (*Eucalyptus globulus*) e três diferentes marcas do óleo essencial de Manjeriço (*Ocimum basilicum*), na concentração de 100% em testes realizados *in vitro* através do método de disco-difusão em ágar, seguindo a metodologia do *National Committee for Clinical Laboratory Standards*. Foram avaliadas a sensibilidade das cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (isolados clínico) e *Candida albicans* ATCC 90028. O potencial de inibição foi determinado pelo tamanho dos halos formados. As marcas dos óleos essenciais tiveram ação inibitória sobre os microrganismos, mas a marca 3 e 4 do óleo essencial de *E. globulus* não apresentou ação inibitória sobre as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. Os resultados foram satisfatórios, contra o crescimento dos microrganismos, devido ao potencial dos óleos essenciais nos testes *in vitro*.

Palavras-chave: Alfavaca. Antibiótico. Antifúngico. Eucalipto. Manjeriço.

ABSTRACT

The use of medicinal plants have been used for many years for the cure of many deceases. The inadequate use of antibiotics make bacteria become resistant, besides the use for infection treatment, natural products are also used for therapeutic ends. For this reason, the scope of this present work was to analyze the antibacterial and anti funghi effect of four brands of the essencial oil of Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) and three different brands of the essencial oil Basil (*Ocimum basilicum*) in test *in vitro* (disk diffusion Method in agar) following the methodology of the National Committee for Clinical Laboratory Standards. The sensitivity of the strains of the *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* (clinical isolates) and *Candida albicans* ATCC 90028. Were analyzed the potential of inhibition was determined by the halos formed. All the brands of the essencial oils had inhibitory action over the microorganisms, the brands 3 and 4 of the essencial oil of *Eucalyptus globulus* did not present inhibitory action over the *S. aureus* and *E. Coli* bacteria. The results were satisfactory against the growth of microorganisms, due to the potential of the essencial oils tested *in vitro*.

KEYWORDS: Alfavaca. Antibiotic. Antifungary. Eucalyptus. Basil.

¹ Acadêmica do curso de Biomedicina, 8º Período, Centro Universitário Campo Real. (karolineianiski@gmail.com).

²Docente orientadora curso de Biomedicina do Centro Universitário Campo Real. (prof_rubiabonapaz@camporeal.edu.br).

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas no tratamento, cura e prevenção de doenças faz parte da cultura do povo brasileiro tendo sua base na tradição familiar. O conhecimento sobre a eficácia das plantas medicinais era e é ainda hoje passado de geração em geração. Porém, atualmente são realizados testes com mais eficiência que podem apresentar resultados positivos em relação ao uso das plantas medicinais em diversos tratamentos (SOUZA, 2015).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) atualmente 80% da população de países em desenvolvimento faz a utilização de práticas medicinais tradicionais, sendo que 85% dessas práticas incluem o uso de plantas medicinais (ROSA; CAMARA; BERIA, 2011).

O óleo essencial (OE) se produz através do metabolismo secundário das plantas, e pode ser extraído de flores, frutas, cascas, folhas e de plantas inteiras. (SARTO; ZANUSSO; JUNIOR, 2014). São determinados quimicamente como mistura complexa de compostos secundários de baixo peso molecular, sintetizados pelos vegetais para sua proteção e sobrevivência, sendo alguns altamente voláteis em temperatura ambiente, não se misturam com a água e possuem um aspecto oleoso (WOLFFENBUTTEL, 2007).

Além de apresentarem proteção antimicrobiana e demonstrar eficiência quando incorporando seu uso em tratamentos, os OE são benéficos por serem produtos cuja matéria prima é abundante na natureza (SOUSA; SERRA; MELO, 2012).

Utilizado nas indústrias farmacêuticas de alimentos e cosméticos devido suas atividades biológicas (MULYANISGSIH et al., 2011), o gênero do *Eucalyptus*, pertencente à família Myrtaceae são originários da Austrália, mas predomina na maioria dos continentes. Seu OE são utilizados popularmente como anestésico, antisséptico, anti-inflamatório e expectorante (BACHIR; BENALI, 2012).

Os OE obtidos através do *E. globulus* contém diversos compostos voláteis em grandes concentrações, estando presentes em folhas e cascas da planta (MULYANINGSIH et al., 2011; PARK; WENDT; HEO, 2016; PARK et al., 2018). Tem como principal constituinte o 1,8-cineol com aproximadamente 74,6% da composição do óleo essencial (VIERA et al., 2017).

Sendo considerada uma árvore de grande porte, podendo atingir até 90 metros de altura, o *Eucalyptus globulus* apresenta tronco liso, folhas perenes, lanceoladas e opostas. A espécie possui flores até 4 cm de diâmetro, solitárias ou em pequenos grupos, que possui numerosos estames macios que podem ser branco, creme, amarelo, rosa ou vermelho (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Considerado uma planta herbácea, ramificada, que chega a atingir cerca de 60 cm de altura, o manjeriço *Ocimum basilicum* L é uma planta pertencente à família Lamiaceae, que é conhecida também como alfavaca, basilicão e alfavacão. Apresenta folhas simples e de formato oval e suas flores são brancas e rosadas em cachos (MAIA, 2007). Sendo uma planta nativa da Ásia, foi introduzida no Brasil pela colônia italiana (LORENZI; MATOS, 2002). É uma planta muito utilizada na culinária gastronômica, na medicina popular como forma de tratamento para diversas doenças (MARTINS et al., 2009).

Atividades farmacológicas como bactericida, fungicida, antiparasitária e, até mesmo como repelente de insetos são apresentadas nos OE do manjeriço (KÉITA et al., 2001).

O gênero *Ocimum* produz um OE rico em ácidos fenólicos, linalol, geraniol, citral, alcanfor, eugenol, timol, 1,8-cineol, acetato de nerila, e outros compostos (GOVIN et al., 2000). A presença de eugenol na planta apresenta ação antisséptica contra alguns fungos (PEREIRA; MOREIRA, 2011).

A bactéria *Staphylococcus aureus* apresenta-se como sendo imóvel, podendo crescer nas temperaturas entre 18° à 40°C (MIRAGLIA; LENCASTRE, 2014), sendo gram-positiva, faz parte da microbiota do homem, sobretudo habitando na narina e região perineal. Os fatores de virulência desta bactéria apresentam mecanismos de adesão, evasão e invasão, quando o sistema imunológico do hospedeiro se encontra enfraquecido. É responsável por doenças graves, dentre elas, infecções da pele, bacteriemias, endocardite, pneumonias, osteomielites e artrite séptica (OTTO, 2010).

Responsáveis por 70 a 85% dos casos de infecções urinárias nas mulheres (SANTOS et al., 2013; PIRES et al., 2016), a *Escherichia coli* pertencente à família Enterobacteriaceae, pode ser encontrada no meio ambiente e na microbiota do homem e animais, é caracterizada como bacilos gram-negativos (DUARTE, 2014; MAINIL, 2013), tendo sua temperatura ideal para crescimento de 37°C (BARNES; VAILLANCOURT; GROSS, 2003; OLIVEIRA et al., 2004; QUINN et al., 2005).

Constituindo o principal grupo de leveduras que resultam em infecções oportunistas no ser humano, o gênero *Candida* compõe-se de cerca de 150-200 espécies, muitas das quais podem habitar o trato gastrointestinal, sistema urogenital, pele e mucosa do trato respiratório de seres humanos (DIGNANI; SOLOMKIN; ANAISSIE, 2009).

Candida albicans é a classe mais importante do gênero e a de maior relevância clínica, pois, corresponde ao agente mais comum de infecções fúngicas em humanos (TAMURA et al., 2007).

Devido ao fato dos microrganismos apresentarem grande ocorrência de resistência, o objetivo deste trabalho foi realizar uma pesquisa *in vitro* sobre a ação antimicrobiana do OE de *E. globulus* e *O. basilicum*, frente as bactérias gram-positiva *S. aureus* e gram-negativa *E. coli* e sobre cepa do fungo *C. albicans*.

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

As diferentes marcas do óleo essencial de Eucalipto e Manjeriço foram obtidas comercialmente em frascos âmbar, lacrados, devidamente rotulados, com volume de 10 mL em lojas de produtos especializados na cidade de Irati-PR e Guarapuava-PR e encomendados através de lojas de especiarias da internet. Foram analisadas sete marcas de OE, dentre elas quatro de eucalipto e três de manjeriço, testados em concentração de 100%. De acordo com a descrição do rótulo da composição dos OE de Eucalipto e Manjeriço, os óleos foram obtidos através da técnica de arraste a vapor.

2.2 MICRORGANISMO

As cepas utilizadas foram a *Candida albicans* ATCC 90028 subcultivado em ágar Sabouraud Dextrose, *Staphylococcus aureus* (isolado clínico) e a *Escherichia coli* (isolado clínico) em ágar Sangue e mantidos em temperatura de incubação a 37°C.

As cepas das bactérias e os discos estéreis foram cedidos pelo Centro Universitário Campo real. A cepa da *C. albicans* foi cedida pelo Laboratório de Micologia da Universidade Estadual do Centro Oeste (UNICENTRO). As placas de ágar Müller-Hinton e ágar sangue foram compradas pela empresa Newprov.

2.3 TESTE DE DISCO-DIFUSÃO

O inóculo foi preparado a partir de colônias jovens de 24 horas de vida, suspensas em solução salina estéril a 0,145 mol/L (0,85%). A turvação foi ajustada primeiramente na escala de McFarland 0,5 e posteriormente em espectrofotometria seguindo um padrão descrita pelo (CLSI, 2009).

A atividade antifúngica e antibacteriana foi analisada empregando-se a técnica de disco-difusão de acordo com a metodologia descrita pelo (CLSI, 2009).

Sob condições assépticas da câmara de fluxo laminar e dos materiais deixados por 30 minutos na luz UV, a superfície de placas estéreis de ágar Mueller-Hinton foi inoculada a partir da semeadura uniforme da suspensão dos microrganismos com o auxílio de um swab de algodão estéril: o mesmo foi mergulhado na suspensão ajustada, o swab foi apertado contra a parede interna do tubo, acima do nível do líquido, para a retirada de qualquer excesso de inóculo no swab e a superfície da placa foi inoculada esfregando o swab de três a cinco vezes em toda superfície, e girando a placa a cada

estriamento para uma distribuição uniforme do inóculo por fim, passou-se o swab na margem da placa de ágar para realizar o fechamento (CLSI, 2009).

Após realizar a semeadura, as tampas das placas foram deixadas entreabertas na câmara de fluxo laminar por três a cinco minutos, de modo que qualquer excesso de umidade fosse absorvido antes de impregnar os discos. Em placas contendo *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans* foram distribuídos discos estéreis e posteriormente foram impregnados com 10 µL de OE de manjeriço e eucalipto das diferentes marcas na concentração de 100%. Para o óleo de manjeriço, utilizaram três marcas distintas; já para o óleo de eucalipto, quatro marcas diferentes (CLSI, 2009).

Para o controle positivo em cepas de *S. aureus* e *E. coli* foi utilizado o sulfazotrim da empresa Laborclin, contendo sulfametoxazol + trimetoprin na concentração final de 25 µg. Já para *C. albicans*, utilizou-se disco estéril impregnado com uma diluição de Fluconazol à concentração final de 25 µg. No controle negativo foi atribuído um disco estéril impregnado com 10 µL de solução salina estéril. Os valores esperados segundo referenciado pelo sulfazotrim para o controle positivo da *E. coli* foram halos de 23-29 mm e para *S. aureus* 24-32 mm. Os valores sugeridos para o Fluconazol para *C. albicans* é de 19 mm. Os ensaios foram realizados em triplicata para melhor confiabilidade dos resultados. As placas foram levadas à estufa bacteriológica com temperatura ajustada em 37°C e aguardado 30 minutos para inverter as placas. A leitura das placas foi realizada após 24 e 48 horas de incubação. Analisou-se se a placa estava satisfatoriamente estriada e se as zonas de inibição resultantes eram uniformemente circulares com um tapete confluyente de crescimento. O diâmetro da zona de inibição foi medido em milímetros usando um paquímetro, na parte de trás da placa invertida respeitando o milímetro inteiro mais próximo do ponto em que havia uma redução proeminente de crescimento (CLSI, 2009).

3. RESULTADOS

As atividades dos OE de Eucalipto e do Manjeriço, foram avaliadas através da técnica de disco-difusão, e seus resultados estão dispostos na tabela 1 e representadas nas figuras A ao F.

Tabela 1 – Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *E. globulus* e *O. basilicum* sobre *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans* – Média do diâmetro do halo (mm) e desvio padrão (DP)

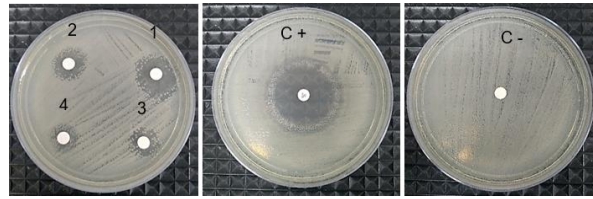
Concentração	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>C. albicans</i>
<i>E. globulus</i>	Média + (DP)	Média + (DP)	Média + (DP)
Marca 1			
	29 ± 4,04	16 ± 2,52	47 ± 6,00
Marca 2			
	23 ± 4,62	17 ± 2,08	47 ± 5,86
Marca 3			
	17 ± 2,08	14 ± 2,00	34 ± 5,29
Marca 4			
	16 ± 3,79	15 ± 1,53	42 ± 4,73
Controle Positivo	28,5	34,5	37
Controle Negativo	0	0	0
Concentração	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>C. albicans</i>
<i>O. basilicum</i>			
Marca 1			
	19 ± 1,00	20 ± 6,93	35 ± 3,61
Marca 2			
	20 ± 3,46	36 ± 2,08	54 ± 2,65
Marca 3			
	41 ± 2,65	44 ± 2,89	57 ± 4,04
Controle Positivo	20	35,5	43
Controle Negativo	0	0	0

Fonte: Autores (2019)

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que as marcas 1 e 2 dos OE de eucalipto e as marcas 1, 2 e 3 de manjeriço testado, exerceram efeitos inibitórios sobre o crescimento e desenvolvimento do *S. aureus*, *E. coli*, não sendo encontrado o mesmo resultado com as marcas 3 e 4 do OE de eucalipto sobre as mesmas cepas, porém foi encontrado um resultado inibitório e satisfatório para todas as marcas do OE de manjeriço sobre *S. aureus*, *E. coli* e a *C. albicans*. Todas as marcas de OE de eucalipto e manjeriço testados apresentaram um efeito inibitório na concentração de 100%.

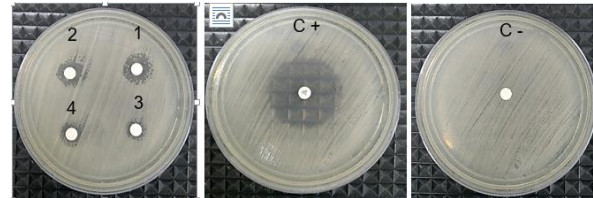
Os controles positivos apresentaram halos como o esperado já o controle negativo não obteve nenhum halo de inibição.

Figura A



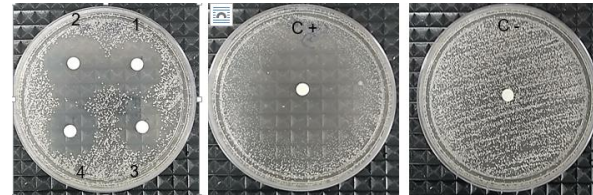
Fonte: Autores (2019)

Figura B



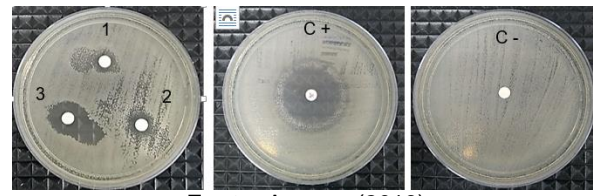
Fonte: Autores (2019)

Figura C



Fonte: Autores (2019)

Figura D



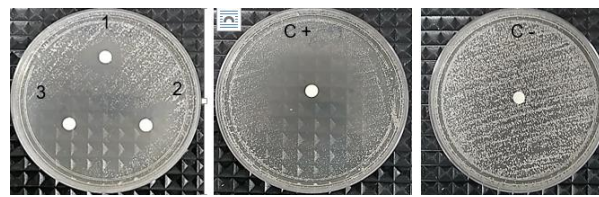
Fonte: Autores (2019)

Figura E



Fonte: Autores (2019)

Figura F



Fonte: Autores (2019)

4. DISCUSSÃO

Neste trabalho utilizaram OE comerciais nas concentrações de 100%, com resultados positivo para *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*, demonstrando resultados semelhantes encontrados por outros autores como descrito a seguir.

Segundo Maia, Donato e Fraga (2015) as atividades antimicrobianas dos OE dependem das concentrações utilizadas, no entanto as concentrações mínimas inibitórias (CMI) variam conforme alguns fatores, sendo o potencial do óleo extraído da planta, devido a variação no quimiótipo causada por diferenças geográficas entre as plantas coletadas, idade da planta, método de extração do óleo essencial, método utilizado para acessar a atividade antifúngica, local de extração na planta, dentre outros fatores.

Os OE ricos em timol, carvacrol, eugenol, cânfora, alfa-pineno e citronelal demonstram atividade antibacteriana destes compostos (Teixeira et al., 2013).

No trabalho desenvolvido por Monteiro (2015) onde testou diversos óleos essenciais testados sobre cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*, comprovou-se a ação da atividade antibacteriana e antifúngica destes óleos.

Em relatos de Taygi e Malik (2011) denota-se que o óleo de *E. globulus* apresentou atividade antimicrobiana contra o *S. aureus* e também atividade contra a levedura *C. albicans* inibindo seu crescimento por meio do método de microdiluição.

Recentemente, Barbosa (2018) realizou seu estudo com diversos OE de *Eucalyptus* e relatou a eficácia da atividade antifúngica pelo método de microdiluição do OE de *E. globulus* contra *C. albicans*.

Comprova-se a eficácia da atividade antifúngica de produtos naturais, tais como o OE de *O. basilicum* em cepas de *C. albicans*, por meio da técnica de disco-difusão, (Barbaro; Stelato, 2009).

No estudo de Aquino et al., (2010) foi avaliado a atividade do OE de *O. basilicum*, contra oito cepas diferentes de *S. aureus*. A atividade foi avaliada pela determinação da CMI, por meio de microdiluição e através da técnica de semeadura. Em todas as cepas, o óleo apresentou ação bactericida e bacteriostática.

Por fim constatou-se a ação inibitória do óleo OE de *O. basilicum* sobre a cepa de *E. coli*, segundo apresentando pelas pesquisas de Hussain et al., (2008).

5. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos foi possível verificar que as marcas do OE adquiridos comercialmente de eucalipto e manjeriço apresentam um efeito inibitório com diferentes CMI, sobre os microrganismos *S. aureus* e *E. coli* bem como para a *C. albicans* na concentração de 100%, o que indicaria uma possível utilização do *E. globulus* e *O. basilicum* como terapia alternativa *in vivo* no tratamento de infecções causadas por estes microrganismos. O presente estudo representa uma avaliação inicial para determinação da atividade antimicrobiana para aplicação terapêutica.

Neste trabalho, as diferentes marcas dos óleos na concentração de 100% conseguiram inibir o crescimento das bactérias e fungo nos testes *in vitro*, exceto as marcas 3 e 4 do OE de eucalipto que não apresentaram ação inibitória para bactérias *S. aureus* e *E. coli*, diferente do encontrado para a levedura *C. albicans*, que apresentou uma sensibilidade de inibição para todos os óleos. Desta forma, destaca-se a importância da realização de mais pesquisas *in vitro*, utilizando outras marcas de OE em diferentes microrganismos e concentrações, testando seu princípio ativo para uma nova possibilidade de tratamento alternativo.

REFERÊNCIAS

- AQUINO, L.C.L.; SANTOS, G.G.; TRINDADE, R.C.; ALVES, J.A.B.; SANTOS, P.O.; ALVES, P.B.; BLANK, A.F.; CARVALHO, L.M. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de erva-cidreira e manjerição frente a bactérias de carnes bovinas. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.21, n.4, p.529-535, 2010.
- BACHIR RG, BENALI M. Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Asian Pac J Trop Biomed**. 2012; **9 (2): 739-742.1**
- BARBARO, N. R.; STELATO, M. M. Atividade anti-candida de óleos essenciais de plantas utilizadas na culinária. Anais do XIV Encontro de Iniciação Científica da PUCCampinas. 2009.
- BARBOSA, Janaina Priscila. **Atividade anti-Candida de óleos essenciais de espécies de Eucalyptus**. Pg. 54-55. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2018.
- BARNES, H. J.; VAILLANCOURT, J. P.; GROSS, W. B. Colibacillosis In: SAIF W. M. **Diseases of poultry. (11a ed.). Iowa, p. 138-144, 2003.**
- DIGNANI MC, SOLOMKIN JS, ANAISSIE EJ. Candida. In: Anaissie, EJ, Mcginnis, MR, Pfaller MA. **Clinical Mycology**. 2nd ed., Amsterdam: Elsevier, 2009.
- DUARTE, A. (2014). Bacteriologia médica: Enterobacteriaceae. In: Barroso, H., et al. (Ed.). **Microbiologia Médica**, volume 1. Lisboa, Lidel. pp. 342 – 357
- GOVIN, E. S. et al. Estúdio farmacognóstico de *Ocimum basilicum L.* (albahaca blanca). **Rev. Cubana Farm**, v. 34, n. 3, p.187-195, 2000.
- HUSSAIN, A.I. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum L.*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 108, n.3, p. 986-995, 2008.
- KÉITA, M. S. et al. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum L.* and *O. gratissimum L.* applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) [Coleoptera: Bruchidae]. **Journal of Stored Products Research**, v. 37, p. 339-349, 2001.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A.. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa-sp: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.
- MAIA, Janine Tatiane Lima Souza. **Cultivo de Plantas Medicinais e Aromáticas em Consórcio com Hortaliças**. 2007. 75p. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Fitotecnia – Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2007.
- MAIA, T.F.; DONATO, A.; FRAGA, M. E. Atividade Antifúngica de Óleos Essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. Campina Grande, v.17, n.1, p.105-116, 2015.
- MAINIL, J. (2013). *Escherichia coli* virulence factors. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, volume 152. pp. 2 – 12.
- MARTINS, J. R. et al. Teores de pigmentos fotossintéticos e estrutura de cloroplastos de Alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Ciência Rural**, **40**, 1, 2009.
- MIRAGAIA, M., LENCASTRE, H. (2014). Bacteriologia médica: *Staphylococcus aureus* e espécies relacionadas. In: BARROSO, H., et al. (Ed.). **Microbiologia Médica**, volume 1. Lisboa, Lidel. pp. 228 – 254
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Monografia da espécie Eucalyptus globulus Labill**. Brasília, 2015. Pg. 3

MONTEIRO, Rita Ana Pinto. **Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais**. Pg.40-45 Universidade Fernando Pessoa – Faculdade de ciências da saúde, Porto, 2015.

MULYANINGSIH S, SPORER F, REICHLING J, WINK M. Antibacterial activity of essential oils from *Eucalyptus* and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. **Pharm Biol.** 2011; **49 (9): 893-899**.

NCCLS. **Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts**; Approved Guideline. NCCLS document M44-A [ISBN 1-56238-532-1]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2004.

OLIVEIRA, W.F. et al. Utilização de diferentes meios de cultura para o isolamento de enterobactérias em amostras fecais de frangos de corte procedentes de explorações industriais do Estado do Ceará, Brasil. **RPCV (2004) 99 (552) 211-214**.

OTTO, M. (2010). Basis of Virulence in Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Annual Review of Microbiology, volume 64. pp. 143 – 162**

PARK B, HWANG E, SEO SA, CHO JG, YANG JE, YI TH. *Eucalyptus globulus* extract protects against UVB-induced photoaging by enhancing collagen synthesis via regulation of TGF- β /Smad signals and attenuation of AP-1. **Arch Biochem Biophys.** 2018; **1 (637):31-39**.

PARK JW, WENDT M, HEO GJ. Antimicrobial activity of essential oil of *Eucalyptus globulus* against fish pathogenic bacteria. **Lab Anim Res.** 2016; **32 (2): 87–90**.

PEREIRA, Rita de Cassia Alves; MOREIRA, Ana Luiza Martins. **Manjerição: Cultivo e Utilização**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 31 p.

PIRES, M. C. S. et al. Prevalência e suscetibilidades bacterianas das infecções comunitárias do trato urinário em Hospital Universitário de Brasília no período de 2001 a 2005. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 48, n. 4, p. 643–647, 2016.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.LEONARD, F.C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**. Porto Alegre, 2005.

ROSA, C.; CÂMARA, S.G.; BÉRIA, J.U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciências & Saúde Coletiva**, v, 16, n. 1, p. 311 - 318, 2011.

SANTOS, T. et al. Identificação e perfil antimicrobiano de bactérias isoladas de urina de gestantes atendidas na Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Prudentópolis, Paraná. Semina: **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 33, n. 2, p. 181– 192, 2013.

SARTO, MPM, ZANUSSO Junior, G. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Revista UNINGÁ Review.** 2014; **20(1):98–102**.

SOUSA, R.M.S; SERRA, I.M.R.S; MELO, T.A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathologica**, v.38, n.1, p.42-47, 2012.

SOUZA, Maingredy Rodrigues et al. Fitoterápicos no tratamento de transtornos de ansiedade. **Eletronic Journal of Pharmacy, vol. XII, Suplemento**, p. 11-12, 2015.

TAMURA NK, et al. Fatores de virulência de *Candida* spp, isoladas de cateteres venosos e mãos de servidores hospitalares. **Revista da sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **40 (1):91-93, jan-fev, 2007**.

TAYGI AK, MALIK A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. **Food Chemistry.** 2011; **126: 228–235**.

TEIXEIRA, B., et al. (2013). Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, volume 43. pp. 587-595

VIEIRA M, BESSA LJ, MARTINS MR, ARANTES S, Teixeira APS, Mendes A, et al. Chemical Composition, Antibacterial, Antibiofilm and Synergistic Properties of 69 Essential Oils from *Eucalyptus globulus* Labill. and Seven Mediterranean Aromatic Plants. **Chem. Biodiversity** 2017; 14.

WOLFFENBÜTTEL, A.N. **Óleos Essenciais**, Rio de Janeiro, 2007. p. 06-07.

CLINICAL and Laboratory Standards Institute (CLSI). Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts. Second Edition. 2009.