



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

BRUNO JOSÉ DA SILVA BEZERRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DO  
ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia uniflora* L. FRENTE A MICRORGANISMOS  
DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA**

Recife

2023

BRUNO JOSÉ DA SILVA BEZERRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DO  
ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia uniflora* L. FRENTE A MICRORGANISMOS  
DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de concentração: sistemas biológicos

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia

Co-orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dra. Fernanda Miguel de Andrade

Recife

2023

Catálogo na Fonte:  
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Bezerra, Bruno José da Silva.

Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica do óleo essencial de *Eugenia uniflora* L. frente a microorganismos de importância clínica. / Bruno José da Silva Bezerra. – 2023.

56 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Maria Tereza dos Santos Correia.

Coorientadora: Fernanda Miguel de Andrade.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Ciências biológicas, 2023.

Inclui referências.

1. Microorganismos antimicrobianos. 2. Microorganismos patogênicos. 3. Plantas medicinais. 4. Myrtaceae - Pitangueira. I. Correia, Maria Tereza dos Santos. (Orient.). II. Andrade, Fernanda Miguel de. III. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-115

BRUNO JOSÉ DA SILVA BEZERRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DO ÓLEO  
ESSENCIAL DE *Eugenia uniflora* L. FRENTE A MICRORGANISMOS DE  
IMPORTÂNCIA CLÍNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas. Área de concentração: sistemas biológicos

Aprovada em: 31/05/2023

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Tereza dos Santos Correia (Orientadora)  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Fernanda das Chagas Ângelo Mendes Tenório (Examinador Externo)  
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Aos meus pais e irmãos,  
... pelo apoio, incentivo e amor nos momentos  
que precisei...

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus pelo dom da vida, por ter me feito acreditar que era possível estar aqui e pela oportunidade que me foi concedida.

A Universidade Federal de Pernambuco pela oportunidade de ingresso no curso de Pós Graduação em Ciências Biológicas, e a Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo fornecimento da bolsa para realização desse estudo.

A minha orientadora, Dra. Maria Tereza dos Santos Correia, pela oportunidade de ser seu aluno, por todos os ensinamentos e pelo estímulo em ultrapassar todas as barreiras para concluir o curso de Pós Graduação; a minha Co-orientadora, Dra. Fernanda Miguel de Andrade, por ter me apresentado o curso, por toda ajuda fornecida durante os experimentos, pela amizade, atenção, paciência e carinho.

A minha professora da graduação, Dra. Welma Emidio da Silva, por ter me incentivado, desde o início da vida acadêmica, a chegar mais longe, além de toda ajuda nos momentos que precisei.

A todos os colegas do laboratório de Produtos Naturais (Bruno Vinicius, Irivânia Aguiar, João Victor, Wendeo Costa) do departamento de Bioquímica, que tive o prazer de conhecer e conviver.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, em especial aos Professores: Dr. Thiago Henrique Napoleão, e Dra. Márcia Vanuza da Silva, coordenadores do programa, além da secretária, Adenilda Lima.

Aos meus pais (Damiana Maria e José Adeildo), que me deram a vida, e me apoiaram de todas as formas para que eu chegasse até aqui. Aos meus irmãos (Matheus José e Moisés Bezerra), pelo incentivo e confiança.

A minha amiga de graduação, Thaís Nogueira, por tolerar meus desabafos, além de todo o incentivo nos momentos de desespero.

Aos meus primos, Wellington Santos e Karolina Santos, obrigado por me receber e por todo carinho.

Finalmente, meu muito obrigado a todos que participaram de forma direta ou não de mais uma etapa da minha vida.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem desfrutam muito e nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

(ROOSEVELT, 1924, p. 04)

## RESUMO

A resistência dos microrganismos aos fármacos é um dos maiores desafios da saúde pública enfrentados na contemporaneidade. A maioria desses microrganismos patogênicos são os principais responsáveis pelas infecções em humanos. Tendo em vista o aumento do desenvolvimento de mecanismos de resistência pelos microrganismos aos fármacos atuais, é explícita a necessidade de novos agentes com potencial antimicrobiano; surgindo os óleos essenciais, a partir das plantas medicinais. A espécie *Eugenia uniflora* L., conhecida como pitangueira, é uma frutífera pertencente a família Myrtaceae. As folhas dessa espécie são fortemente utilizadas na medicina popular na forma de infusão e chás. Estudos apontam que *E. uniflora* tem potencial antibacteriano, antioxidante e diurético. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antibacteriano e antifúngico do óleo essencial de *E. uniflora* frente a *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, microrganismos patogênicos. Após a coleta e identificação do material vegetal, o óleo essencial das folhas de *E. uniflora* foi obtido através do método de hidrodestilação. A Concentração Inibitória Média foi determinada pela técnica de microdiluição. A cada um dos 6 poços de uma das linhas da placa foi inicialmente adicionado 100 µL de meio de cultura, seguido de 100 µL do produto natural na concentração de 2.000 µg/mL. O último poço da placa foi utilizado como controle de crescimento. Ainda foram utilizados os fármacos Cetoconazol® para fungos, e Eritromicina® para bactérias como controles positivos. Todos os testes e controles foram realizados em triplicata para cada microrganismo. A leitura da absorbância dos poços foi executada em aparelho de espectrofotometria de ELISA (Termoplate®). Observou-se que o óleo essencial de *E. uniflora* apresentou ação sobre todos os microrganismos, com dosagens relativamente baixas sobre as bactérias, destacando-se sua atividade perante *C. albicans*. Todas as cepas testadas mostraram inibição de acordo com sua curva de crescimento, no entanto, para as bactérias, o resultado se mostrou melhor para o antibiótico. Para o fungo, o óleo essencial de *E. uniflora* promoveu maior acentuação da curva de crescimento em relação ao antifúngico padrão. Dessa forma, observou-se que o óleo essencial de *E. uniflora* apresenta potencial antibacteriano e antifúngico, podendo ser um produto promissor no combate a resistência microbiana.

**Palavras-chave:** antimicrobianos; microrganismos patogênicos; plantas medicinais; myrtaceae; pitangueira

## ABSTRACT

The resistance of microorganisms to drugs is one of the greatest public health challenges faced in contemporary times. Most of these pathogenic microorganisms are primarily responsible for infections in humans. In view of the increased development of resistance mechanisms by microorganisms to current drugs, the need for new agents with antimicrobial potential is explicit; emerging essential oils from medicinal plants. The species *Eugenia uniflora* L., known as pitangueira, is a fruit belonging to the Myrtaceae family. The leaves of this species are heavily used in folk medicine in the form of infusions and teas. Studies indicate that *E. uniflora* has antibacterial, antioxidant and diuretic potential. Therefore, the objective of this study was to evaluate the antibacterial and antifungal potential of the essential oil of *E. uniflora* against *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, pathogenic microorganisms. After collecting and identifying the plant material, the essential oil from the leaves of *E. uniflora* was obtained through the hydrodistillation method. The Mean Inhibitory Concentration was determined by the microdilution technique. To each of the 6 wells of one of the lines of the plate, 100  $\mu$ L of culture medium was initially added, followed by 100  $\mu$ L of the natural product at a concentration of 2,000  $\mu$ g/mL. The last well of the plate was used as a growth control. The drugs Ketoconazole® for fungi and Erythromycin® for bacteria were also used as positive controls. All tests and controls were performed in triplicate for each microorganism. Reading the absorbance of the wells was performed in an ELISA spectrophotometry device (Termoplate®). It was observed that the essential oil of *E. uniflora* acted on all microorganisms, with relatively low dosages on bacteria, highlighting its activity against *C. albicans*. All strains tested showed inhibition according to their growth curve, however, for bacteria, the result was better for the antibiotic. For the fungus, the essential oil of *E. uniflora* promoted a greater accentuation of the growth curve in relation to the standard antifungal. Thus, it was observed that the essential oil of *E. uniflora* has antibacterial and antifungal potential, and may be a promising product to combat microbial resistance.

**Keywords:** antimicrobials; pathogenic microorganisms; medicinal plants; myrtaceae; pitangueira.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - <i>Eugenia uniflora</i> .....	23
Figura 02 - <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
Figura 03 - <i>Candida albicans</i> .....	31
Figura 04 - Infecção oral por <i>Candida albicans</i> .....	32
Figura 05 - Curvas de crescimento dos microrganismos na presença do óleo essencial de <i>Eugenia uniflora</i> , e dos fármacos cetoconazol e eritromicina .....	41

## TABELAS

**Tabela 01** - Comparativo entre concentração inibitória média do óleo essencial de *Eugenia uniflora*, e o dos fármacos cetoconazol e eritromicina  
..... 39

## ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C: antes de Cristo

*C. albicans*: *Candida albicans*

DMSO: Dimetilsulfóxido

DNA: Ácido desoxirribonucleico

*E. faecalis*: *Enterococcus faecalis*

*E. uniflora*: *Eugenia uniflora*

IC<sub>50</sub>: Concentração Inibitória Média

*K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae*

Mg: Micrograma

mL: Miligrama

OE: Óleo Essencial

OeEu: Óleo Essencial de *Eugenia uniflora*

OMS: Organização Mundial de Saúde

PNPMF: Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

PNPIC: Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

*S. aureus*: *Staphylococcus aureus*

SUS: Sistema Único de Saúde

UTI: Unidade de Terapia Intensiva

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
2.1 Geral .....	18
2.2 Específicos .....	18
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>19</b>
3.1 Plantas medicinais e Óleo Essencial .....	19
3.2 Família Myrtaceae.....	21
3.3 <i>Eugenia uniflora</i> .....	23
3.4 Resistência microbiana .....	25
3.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
3.4.2 <i>Enterococcus faecalis</i> .....	28
3.4.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	29
3.4.4 <i>Candida albicans</i> .....	30
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>33</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>47</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>48</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os antimicrobianos são largamente pesquisados tanto na área vegetal quanto animal, com o objetivo de propor alternativas menos agressivas ao homem e ao ambiente, assim como substituir os fármacos quando se tornam inativos (BORGES et al., 2017). A inatividade dessa classe de medicamentos se deve, muitas vezes, ao desenvolvimento de mecanismos de defesa dos microrganismos, fazendo com que agentes antimicrobianos vendidos em larga escala se tornem obsoletos (SALDANHA; SOUZA; RIBEIRO, 2018).

As bactérias são um grupo de organismos unicelulares, de tamanho microscópico, que tem sido citado na literatura por desenvolver mecanismos de resistência a antibióticos. Por apresentar diversas espécies de importância clínica, a resistência bacteriana tem se tornado um problema de saúde pública (LEITE et al., 2019). Sendo assim, a comunidade científica vem procurando novas substâncias capazes de serem empregadas no combate a bactérias resistentes, além de outros microrganismos, como os fungos (SOUZA et al., 2016; PINHO et al., 2012).

Entre as infecções hospitalares, a pneumonia representa a segunda mais comum e a primeira em pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI). (CARVALHO, 2006). No ambiente hospitalar as infecções que ocorrem nas UTI tem destaque, dessa forma esses setores são considerados epicentros de resistência microbiana. Essas infecções promovem aumento do tempo de internação, custos mais elevados e mortalidade (CANZI; COLACITE, 2016; TEIXEIRA et al., 2004). Uma considerável parcela dos patógenos associados à infecções nosocomiais fazem parte do grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter species*). Essas bactérias apresentam resistência a múltiplos antibióticos, limitando as alternativas terapêuticas, colocando em alto risco a vida dos pacientes infectados (CRUZ et al., 2022; BATHIA et al., 2021; NISHIYAMA et al., 2021; RICE 2010).

O potencial terapêutico das plantas medicinais, a partir da utilização dos extratos ou dos óleos essenciais (OE) para o tratamento de doenças, está crescendo graças ao desenvolvimento de ensaios farmacológicos e aumento do interesse pela pesquisa de novos medicamentos com ação antimicrobiana (LEITE,

2009). Óleos e extratos de plantas há muito tempo têm servido de base para diversas aplicações na medicina popular (NASCIMENTO et al., 2007).

Os OE são extraídos de plantas através da técnica hidrodestilação, na grande maioria das vezes. São compostos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos que conferem suas características organolépticas. Flores, folhas, cascas, rizomas e frutos são matérias-primas para sua produção. Possuem grande aplicação na perfumaria, cosmética, alimentos e como coadjuvantes em medicamentos (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

A família Myrtaceae compreende mais de 100 gêneros e 3.500 espécies de árvores e arbustos que se distribuem por todos os continentes, exceto da Antártica, mas com boa predominância nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Representada por aproximadamente 1.000 espécies no Brasil, Myrtaceae é uma das famílias mais importantes no país com destaque para o gênero *Eugenia*. As mirtáceas brasileiras geralmente não produzem madeiras valiosas, restringindo-se ao fornecimento de lenha. Por outro lado, há numerosas espécies frutíferas, algumas exploradas comercialmente (a jabuticabeira, *Myrciaria cauliflora* e a pitangueira, *Eugenia uniflora*). Essas espécies representam apenas uma pequena fração do grande potencial econômico da família, tendo em vista o grande número de frutos comestíveis produzidos (GRESSLER; PIZO; MORELLATO 2006).

A pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) é uma frutífera nativa da região que se estende desde o Brasil Central até o norte da Argentina. O seu cultivo no estado de Pernambuco vem crescendo em razão da utilização do fruto para o preparo de polpa e suco, como também para a fabricação de sorvetes, refrescos, geléias, licores e vinhos. Essa espécie é constantemente usada com finalidade terapêutica (BEZERRA et al., 2004). Folhas e frutos de *E. uniflora* têm sido amplamente utilizados na forma de infusões para obter efeitos excitantes, antifebril, antidiarréico, anti-hipertensivo e anti-reumático (MOURA et al., 2018). Além da sua atividade antimicrobiana (SOBEH et al. 2016), apresenta inúmeras atividades biológicas, como: antioxidante, hipotensora, anti-hipertensiva e diurética (SOUZA et al., 2014).

Como se sabe, os OE das plantas medicinais são ricos em importantes atividades biológicas, assim como *E. uniflora* apresenta um interessante potencial terapêutico. Os impactos da resistência dos microrganismos aos fármacos são incontestáveis e repercutem negativamente na saúde dos indivíduos. Sendo assim, esse estudo teve como objetivo geral avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica

do óleo essencial de *Eugenia uniflora* frente a *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica do óleo essencial de *Eugenia uniflora* L. frente a *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- Coletar folhas de *Eugenia uniflora* e extrair o seu óleo essencial;
- Replicar os microrganismos após recebimento das espécies;
- Armazenar os microrganismos após acrescentá-los aos seus meios de cultura.
- Solubilizar e esterilizar os meios líquidos;
- Realizar a microdiluição seriada dos meios de cultura e do óleo essencial de *Eugenia uniflora*;
- Incubar os microrganismos após o teste de microdiluição.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 PLANTAS MEDICINAIS E ÓLEO ESSENCIAL

A utilização de plantas com fins terapêuticos, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das práticas mais antigas da humanidade. No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que em média 70% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (RODRIGUES, et al., 2011; JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Existem muitos registros históricos sobre a utilização das plantas para tratamento de doenças desde 4.000 a.C. O primeiro registro médico depositado no Museu da Pensilvânia é datado de 2.100 a.C. e inclui uma coleção de fórmulas de trinta diferentes drogas de origem vegetal, animal ou mineral (DUARTE, 2006).

No Brasil, o uso das plantas medicinais está diretamente ligada a cultura indígena, mas a influência europeia é incontestável, visto a alta quantidade de plantas introduzidas em nossas hortas e amplamente utilizadas não somente como medicamento, mas também como ervas aromáticas. Várias espécies de plantas foram trazidas da África pelos negros e, além de serem usadas como medicinais, fazem parte dos ritos afro-brasileiros e, para grande parte da população, têm poderes sobrenaturais (GRANDI et al., 1989).

Muitas sociedades descreveram a utilização de plantas como forma de medicamento em seus registros e manuscritos, no entanto, muitos séculos se passaram até que o verdadeiro poder das plantas fosse reconhecido. As maiores descobertas dos princípios ativos das plantas só foram possíveis após os avanços tecnológicos para o isolamento e elucidação estrutural dos seus metabólitos (DEVIENCE; RADDI; POZETTI, 2004).

É importante ressaltar que nos últimos anos, o Ministério da Saúde do Brasil, busca estimular a inserção das práticas complementares de cuidado no sistema de saúde. Destaca-se a implementação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), ambas no ano de 2006, e que visam estimular o acesso às práticas complementares e às plantas medicinais, para o cuidado em saúde, de forma eficaz e segura (PIRIZ et al., 2014).

Na América Latina, em especial nas regiões tropicais, existem inúmeras espécies de plantas medicinais de uso local, com possibilidade de geração de uma relação custo-benefício bem menor para a população, promovendo saúde a partir de plantas produzidas localmente. No Brasil existem diversidades e peculiaridades sobre as plantas medicinais, com concepções, opiniões, valores, conhecimentos, práticas e técnicas diferentes de uso. Algumas características desejáveis das plantas medicinais são sua eficácia, baixo risco de uso, assim como reprodutibilidade e constância de sua qualidade (ARNOUS; SANTOS; BEINNER, 2005).

Durante o período da Renascença, quando o termo “óleo essencial” foi introduzido, este designava “a alma da planta”, a quintessência para a cura. Anteriormente a este período, Roma após invadir territórios, como o Egito, disseminou o uso de plantas aromáticas em banhos, sendo que os romanos chegaram a ter mais de 1000 casas de banho por volta de 753 a.C. As plantas aromáticas, bem como os respectivos OE, são utilizados desde o início da história da humanidade, contribuindo para a comunicação entre os indivíduos e influenciando o bem-estar dos seres humanos e animais, demonstrando assim uma antiga tradição sociocultural e socioeconômica da utilização destes produtos (MACHADO; JUNIOR, 2011). A literatura aponta que durante os séculos XVI e XVII, mais de 100 OE eram utilizados em doenças específicas graças ao conhecimento da ancestralidade que eram enriquecidas pelas descobertas da medicina tradicional (ECHEVERRIA et al., 2022).

Nesse contexto, os OE são substâncias não gordurosas, voláteis, produzidas a partir do metabolismo secundário das plantas, com elementos contidos em muitos órgãos vegetais. São classificados segundo a sua estrutura molecular em monoterpenos, sesquiterpenos, álcoois, aldeídos, ésteres, fenóis, éteres e óxidos, peróxidos, furanos, lactonas e ácidos, e, por sua atividade bioquímica, em grupos funcionais (LIMA et al., 2006; NASCIMENTO; PRADE, 2020; SILVEIRA et al., 2012). Quimicamente falando, OE são óleos naturais, com odor próprio, secretado pelas glândulas de plantas aromáticas, obtido por processo físico e estrutura química formada por carbono, hidrogênio e oxigênio, dando origem a complexa mistura de substâncias, que podem chegar a várias centenas delas, havendo predominância de uma a três substâncias que caracterizam a espécie vegetal em questão (TRANCOSO et al., 2013).

No ano de 2009, de acordo com a base de dados americana COMTRADE (*United Nations Commodity Trade Statistics Database*), os maiores consumidores de OE no mundo são os EUA (40%), a União Europeia - UE (30%), sendo a França o país líder em importações e o Japão (7%), ao lado do Reino Unido, Alemanha, Suíça, Irlanda, China, Cingapura e Espanha. O mercado mundial de OE gira em torno de US\$ 15 milhões/ano, apresentando crescimento aproximado de 11% por ano (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

Uma série de processos têm sido investigados para a obtenção do OE das plantas medicinais (WATANABE et al., 2006). A obtenção destes compostos voláteis pode ser realizada por diversos procedimentos, tais como: hidrodestilação, arraste com vapor d'água, extração a frio e a quente com solvente, enflouragem, CO<sub>2</sub> supercrítico e outros. Entretanto, os métodos de hidrodestilação e arraste com vapor de água são os mais utilizados. Apesar de apresentarem semelhanças entre si, a composição química do óleo obtido por estes processos podem ser acentuadamente diferentes, uma vez que a hidrodestilação constitui-se em um método em que o material vegetal fica em contato direto com a água em ebulição, onde os constituintes voláteis são arrastados pelo vapor de água e em seguida, condensados em sistema de refrigeração (SILVA et al., 2014).

Estudos realizados com OE de diversas plantas medicinais apontam várias atividades biológicas destes compostos, entre elas antifúngica (MAIA; DONATO; FRAGA, 2015; LIMA et al., 2006); antioxidante (SCHERER et al., 2009; MORAIS et al., 2006); antimicrobiana (HILLEN et al., 2012; VALERIANO et al., 2012; SANTURIO et al., 2007); larvicida (FURTADO et al., 2005).

### **3.2 FAMÍLIA MYRTACEAE**

Myrtaceae tem seu nome derivado do grego *Myrtus*, em razão das suas folhas aromáticas. É uma das famílias mais ricas dos neotrópicos, e mais citadas em estudos florísticos e fitossociológicos da Mata Atlântica. Contudo, seus espécimes podem não ser identificados a nível de espécie em decorrência da sua diversidade e complexidade taxonômica (BIZARRO; MILLER; BLUM, 2021).

Myrtaceae é uma das famílias de plantas mais importantes em numerosas formações vegetais no Brasil. Suas flores são hermafroditas, de cor clara com diversos estames, e os frutos carnosos (GRESSLER; PIZO; MORELLATO, 2006).

Espécies da família Myrtaceae encontram-se distribuídas em regiões tropicais e subtropicais, sendo organizadas em suas subfamílias: Myrtoidea, encontrada principalmente na América tropical, e Leptospermoideae, que ocorre, principalmente, na Austrália, Malásia e Polinésia (VIEIRA et al., 2004).

Essa família compreende aproximadamente 5.600 espécies e 132 gêneros. No Brasil são conhecidas 1.034 espécies e 23 gêneros (LIMA; GOLDENBERG; SOBRAL, 2011), das quais 297 espécies e 17 gêneros têm ocorrência no estado de São Paulo (SILVA; MAZINE, 2016). É reconhecida como a oitava maior família de plantas com flores, englobando diversos gêneros de grande relevância ecológica e econômica em todo o mundo (GRATTAPAGLIA, et al., 2012). Devido a sua ampla diversidade de hábitos, inclui espécies herbáceas, arbustivas e frequentemente arbóreas (CRUZ; KAPLAN, 2012).

Muitos frutos das mirtáceas são agradáveis visualmente e ao paladar, se destacando principalmente por seu potencial medicinal. A pitanga, por exemplo, é utilizada há muito tempo na medicina popular para diferentes fins. Seus frutos, incluindo suas sementes, são ricos em cálcio, fósforo, antocianina, flavonoides, carotenoides e vitamina C, que indicam sua alta propriedade antioxidante. O consumo elevado de frutos e outros vegetais com potencial antioxidante pode estar associado a uma incidência reduzida de certos tipos de cânceres e a efeitos benéficos em doenças cardiovasculares, diabetes e obesidade (AMORIM; SILVA; BARBEDO, 2020).

O gênero *Eugenia* encontra-se bem representado nas muitas formações de vegetação do Brasil, não apenas quanto à riqueza específica, mas também quanto à abundância e frequência de suas espécies. Muitas dessas espécies são ricas em óleos essenciais e taninos, e são constantemente utilizadas na medicina popular (ROMAGNOLO; SOUZA, 2006). Esse gênero figura entre os mais importantes na família Myrtaceae, pelo valor comercial de suas espécies, seu poder nutritivo e potencial de aproveitamento na obtenção de fármacos (SILVA; BILIA; BARBEDO, 2005). Alguns estudos demonstraram o potencial terapêutico de espécies do gênero *Eugenia*, destacando-se: efeito hipoglicemiante, antioxidante e protetor contra a hipertrofia renal causada pelo diabetes mellitus (BENFATTI, et al., 2010).

### 3.3 *EUGENIA UNIFLORA*

O Brasil é o maior produtor de frutos de *E. uniflora* (figura 1), conhecida popularmente como “cereja do Brasil” ou “pitangueira”. Além da sua vasta distribuição em seus locais de origem, a *E. uniflora* tem sido amplamente cultivada em outros países da América do Sul (Argentina, Bolívia e Paraguai), América Central (Panamá, México e Honduras), e África (Madagascar e África do Sul), devido à sua boa adaptação a todas as condições climáticas (GRIEBELER, et al., 2022; CIPRIANO; MAIA; DESCHAMPS, 2021).

**Figura 01:** *Eugenia uniflora*



Fonte: Ministério da Saúde, 2015

No Brasil, essa espécie é bastante popular (PEREIRA; MONTEIRO; SIQUEIRA 2020). Em 2012, o cultivo da pitangueira era realizado principalmente nos estados de Pernambuco e Rio Grande do Sul, com perspectivas de avanço para os anos seguintes, em razão do sabor excêntrico dos seus frutos e sua riqueza em cálcio, fósforo, antocianinas, flavonoides, carotenoides e vitamina C. As frutas são utilizadas para o consumo *in natura* ou para o preparo de doces, geleias, sorvetes, sucos e infusões (BIERHALS, et al., 2012).

A pitangueira apresenta cerca de 6-12m de altura, podendo ser utilizada no paisagismo ou até mesmo cultivada em pomares domésticos. A madeira é

empregada na confecção de cabos de ferramentas e outros instrumentos de uso agrícola. Floresce entre agosto e novembro, produzindo de 2,5 a 3,5 kg de frutos por ano (SCALON et al., 2001; PELACANI, et al., 2000). Seus frutos são estimados pela fauna e pelos seres humanos, em razão do seu sabor agradável e refrescante (AVILA, et al., 2009). As folhas de *E. uniflora* apresentam epiderme glabra, estômatos paracítico na epiderme abaxial, correspondendo ao padrão de toda espécie da família Myrtaceae (ALVES; TRESMONDI; LONGUI, 2008).

A *E. uniflora* é constantemente utilizada para fins terapêuticos, pela indústria de cosméticos e em áreas de restauração florestal, sendo ecologicamente importante como espécie colonizadora em áreas perturbadas, bem como alimento para a fauna local (MOURA et al., 2018). Suas folhas e frutos têm sido frequentemente usados dentro da medicina popular brasileira, na forma de infusões, para obter efeitos excitantes, antimaláricos, anti-hipertensivos e anti-reumáticos. Além disso acredita-se que o chá da folha ou extrato alcóolico atua no combate a diarreia, inflamação, bronquite, tosse, febre e ansiedade (CASTRO et al., 2019; MOURA et al., 2018; KUHN et al., 2015; COSTA et al., 2009).

Vários estudos observaram nas folhas de *E. uniflora* a presença de fitoconstituintes, como, antraquinonas, esteróides, triterpenos, heterosídeos flavonoides, heterosídeos saponínicos e taninos, sesquiterpenos, compostos fenólicos, antocianinas, flavonóides e carotenóides (MOURA et al., 2018), além dos óleos essenciais (MARIANI et al., 2016), sugerindo um importante potencial fitoterápico a ser investigado.

Do gênero *Eugenia*, a *E. uniflora*, é a espécie mais estudada, em decorrência das investigações sobre a base farmacológica do uso popular dessa planta (QUEIROZ et al., 2015). Levando em consideração o alto potencial terapêutico de *E. uniflora*, estudos fitoquímicos são relevantes (FERREIRA et al., 2022). Dentre as suas atividades biológicas, sabe-se que essa espécie apresenta ação antimicrobiana (DALMAGRO et al., 2022; TOLEDO et al., 2021), antioxidante (TOLEDO et al., 2021; VICTORIA et al., 2012), e antifúngica (FERREIRA et al., 2021).

Devido às várias atividades biológicas que a espécie apresenta, a *E. uniflora* está incluída na lista de plantas medicinais de interesse do Sistema Único de Saúde (SUS) do Brasil, com o objetivo de orientar pesquisas e estudos que possam subsidiar a elaboração da relação de fitoterápicos disponíveis para uso populacional, com eficácia e segurança (SOUZA et al., 2022).

### 3.4 RESISTÊNCIA MICROBIANA

Sabe-se que as infecções hospitalares é um problema de saúde pública, pois na vigência de tratamento ineficaz e impróprio são geradas recidivas ou pode ocorrer até a morte do paciente. Conseqüentemente, essa situação implica no aumento dos custos da terapia medicamentosa e do tempo de internação, bem como do trabalho dos profissionais da saúde, gerando mais demora no atendimento de outros pacientes (MEYER; PICOLI, 2011).

Os antibióticos são uma classe de fármacos naturais ou sintéticos capazes de promover a inibição do crescimento ou causar a morte de bactérias. São classificados como bactericidas, quando eliminam a bactéria, ou bacteriostáticos, quando retardam o crescimento microbiano (GUIMARAES; MOMESSO; PUPO, 2010). O primeiro antibiótico descoberto foi a penicilina em 1928 por Alexander Fleming, acidentalmente, sendo utilizado de maneira clínica somente a partir de 1940, principalmente em pacientes na segunda guerra mundial, causando uma revolução no tratamento de inúmeras doenças em humanos e animais. Após esse período, novos antibióticos foram descobertos, como estreptomicina, tetraciclina, cloranfenicol e neomicina (SCALDAFERRI et al., 2020; CALIXTO; CAVALHEIRO, 2012; FERREIRA; PAES; LICHTENSTEIN, 2008).

A resistência aos antibióticos é observada desde o início da era dos antibióticos, e se desenvolve como uma natural consequência da habilidade da população microbiana de se adaptar. O uso indiscriminado de antibióticos aumenta a pressão seletiva e, também, a oportunidade do microrganismo ser exposto aos mesmos. Aquela oportunidade facilita a aquisição de mecanismos de resistência (SANTOS 2004). O desenvolvimento da resistência microbiana ocorre quando a bactéria expressa genes que possibilitam a mediação no mecanismo de ação do antibiótico por transmutação espontânea de ácido desoxirribonucleico (DNA) ou por modificação e transmissão de plasmídeos (TEIXEIRA et al., 2019).

Para Bejarano, Perez, Mora (2018) esta situação dificulta o tratamento de doenças não apenas em humanos, mas também em plantas e animais, tornando necessário descobrir novos agentes antimicrobianos e entender os genes que causam essa resistência, além das suas origens.

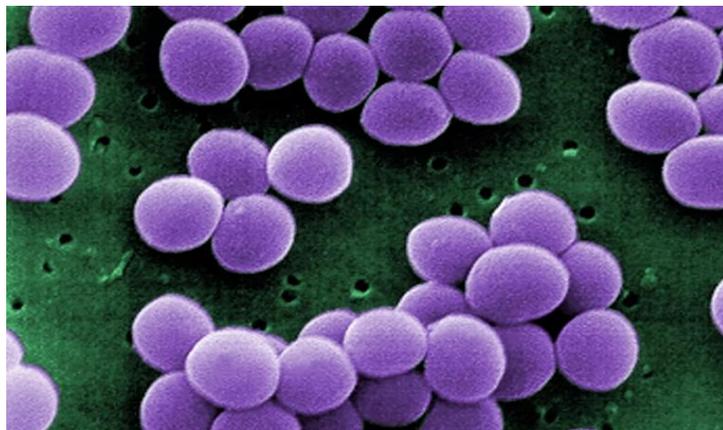
A resistência microbiana, nas últimas décadas, tem crescido de modo que foi reconhecida como uma ameaça mais urgente que a saúde global e desenvolvimento

econômico. Em ambientes com alta taxa de prescrição de antimicrobianos, como enfermarias médicas e unidades de terapia intensiva, infecções por bactérias de difícil tratamento são cada vez mais associadas à mortalidade elevada e a custos hospitalares elevados (VALENÇA et al., 2022). Dessa forma a resistência microbiana é caracterizada como uma das principais ameaças a saúde, repercutindo negativamente nas atividades econômicas, alimentares, turísticas e nos fluxos migratórios, necessitando de consulta e vigilância com maior ou menor apoio de cada país (CEREZO et al., 2020). Em Cuba, por exemplo, existe uma Política Antimicrobiana, um Comitê Farmacoterapêutico e especificamente um Comitê de Antibióticos em cada unidade de atendimento (VALDÉS 2017).

### 3.4.1 *Staphylococcus aureus*

O *S. aureus* (figura 02) foi descoberto na década de 1880. Trata-se de uma bactéria Gram-positiva potencialmente patogênica, causadora de muitas infecções (TRINSTAN et al., 2007; ASPERGER et al., 1994) . No início da década de 1940, antes da introdução da penicilina para o tratamento de infecções por *S. aureus* , a taxa de mortalidade de indivíduos com infecção era de cerca de 80%. Em 1942, 2 anos após a introdução da penicilina para uso médico, o primeiro isolado dessa bactéria resistente à penicilina foi observado em um hospital. Posteriormente, cepas de *S. aureus* resistentes à penicilina também foram observadas na comunidade. Desde 1960, cerca de 80% de todas as cepas de *S. aureus* são resistentes à penicilina (DEURENBERG; STOBBERINGH, 2008).

**Figura 02:** *Staphylococcus aureus*



Fonte: Revista Galileu, 2021

Estruturalmente, os *Staphylococcus* são cocos com aproximadamente 0,5 a 1,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, imóveis, não-esporulados e geralmente não-encapsulados. Essa bactéria pode apresentar-se em diversas formas, que vão desde isolados, aos pares, em cadeias curtas, ou agrupados irregularmente devido à sua divisão celular, que ocorre em três planos perpendiculares. O gênero *Staphylococcus* pertence à família Micrococcae. Atualmente, esse gênero possui 33 espécies, sendo que 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas. Geralmente, esse gênero faz parte da microbiota da pele humana normal e de outros sítios anatômicos. A espécie de maior interesse médico, principalmente em ambiente hospitalar, é o *S. aureus* (SANTOS et al., 2007; LOWY, 1998).

Nas décadas de 50 e 70, epidemias por *S. aureus* resistentes à penicilina e linhagens multirresistentes chamaram a atenção para o problema da resistência adquirida aos antimicrobianos. Atualmente, este microrganismo resistente a meticilina, é o maior patógeno nosocomial em infecções hospitalares, tornando a multiresistência, um grande problema de saúde pública (OLIVEIRA et al., 2022; SILVA et al., 2007). Essa bactéria Gram-positiva tem demonstrado um grande poder de adaptação a todos os agentes antimicrobianos, adquirindo resistência a todos os antibióticos disponíveis para tratamento de enfermidades que ela ocasiona. Existem pelo menos três mecanismos de resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos em *S. aureus*: resistência mediada por enzimas (penicilinasas ou  $\beta$ -lactamasas), que desativam o antibiótico; resistência intrínseca, que promovem a inativação da droga; modificação de proteínas de união a penicilinas (GONZÁLEZ; MENA, 2010).

*S. aureus* cresce em condições aeróbicas e anaeróbicas, nas quais forma cachos semelhantes a uvas. Seus principais habitats são as membranas nasais e a pele de animais de sangue quente, nos quais causa uma variedade de infecções, desde leves, como infecções de pele e intoxicação alimentar, até com risco de vida, como pneumonia, sepse, osteomielite e endocardite infecciosa (KURODA et al., 2001). Por isso esse patógeno é talvez o de maior preocupação, além de sua virulência intrínseca e sua fácil adaptação a diferentes condições ambientais. A mortalidade da bacteremia por *S. aureus* permanece em aproximadamente 20%-40%, apesar da disponibilidade de antimicrobianos eficazes (LOWY et al., 2003).

### 3.4.2 *Enterococcus faecalis*

Os *enterococos* são cocos Gram-positivos que podem ocorrer de maneira isolada, em pares ou em cadeias curtas. Eles são anaeróbios facultativos, possuindo a capacidade de crescer na presença ou ausência de oxigênio. As espécies de *Enterococcus* vivem em grandes quantidades [ $10^5$ - $10^8$  unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de fezes] no lúmen intestinal humano e, na maioria das circunstâncias, não causam danos aos seus hospedeiros (STUART et al., 2006).

Os *enterococos* estão entre os principais patógenos considerados nosocomiais, e suas cepas resistentes aos antibióticos disponíveis possuem dificuldades terapêuticas reais. De acordo com a literatura, até 90% das infecções por enterococos em humanos são causadas por *E. faecalis* (KAYAOGLU; ORSTAVIK 2004). Essa espécie frequentemente causa uma extensa variedade de infecções, comumente infectando o trato urinário, biliar, a corrente sanguínea, abdômen, endocárdio e queimaduras (LOVE 2001; MCBRIDE et al., 2007).

Além das elevadas taxas de infecções, os *enterococos* estão se tornando cada vez mais resistentes aos agentes antimicrobianos em todo o mundo. Os enterococos são intrinsecamente resistentes quando os genes de resistência estão localizados no cromossomo, ou possuem determinantes de resistência adquiridos que estão localizados em plasmídeos ou transposons. Isso sugere que o tratamento de infecções enterocócicas pode ser difícil, pois possuem determinantes de resistência intrínseca a muitos antibióticos (RATHNAYAKE; HARGREAVES; HUYGENS 2012).

Em animais de laboratório, como camundongos, o uso de antibióticos, incluindo cefoxitina, ceftriaxona, ampicilina e vancomicina, promove o crescimento de isolados de *E. faecium* resistentes a medicamentos. É importante salientar que cepas patogênicas de *E. faecalis* podem produzir citolisina, o que exacerba a toxicidade causada pelas infecções e leva a uma ameaça cinco vezes maior de morte em bacteremia nosocomial (SHIADEH et al., 2019).

### 3.4.3 *Klebsiella pneumoniae*

Um dos gêneros bacterianos comumente isolados em casos de infecção hospitalar, como pneumonia, infecção urinária e septicemia, é a *K. pneumoniae* (MEYER; PICOLI, 2011). Essa bactéria pertence à família Enterobacteriaceae, que engloba os conhecidos gêneros *Salmonella* e *Escherichia*. Esta espécie há muito tempo é reconhecida como um agente de doença e permanece entre os patógenos nosocomiais mais comuns do mundo. Foi descrita pela primeira vez como causa de pneumonia por Carl Friedländer em 1882. É também uma das principais causas de sepsis neonatal. Somente na Europa, essas cepas são responsáveis por mais de 90.000 infecções, mais de 7.000 mortes anualmente e 25% do total de anos de vida ajustados por incapacidade perdidos devido a infecções bacterianas multirresistentes (WYRES; LAM; HOLT, 2020).

O gênero *Klebsiella* é aparentemente onipresente em termos de suas associações de habitat. *Klebsiella* é um patógeno oportunista comum para humanos e animais, além de ser residente ou transitório da flora (trato gastrointestinal). Outros habitats incluem esgoto, água potável, solos, águas superficiais, efluentes industriais e vegetação. Até recentemente, quase todas essas *Klebsiella* foram identificadas como uma espécie, ou seja, *K. pneumoniae*. No entanto, estudos fenotípicos e genotípicos mostraram que essa bactéria na verdade consiste em pelo menos quatro espécies, todas com características e habitats distintos. As associações gerais de habitat das espécies de *Klebsiella* são as seguintes: *K. pneumoniae* - humanos, animais, esgoto e águas e solos poluídos; (BAGLEY 2015); *K. oxytoca* - associação ampla com a maioria dos habitats (SINGH; CARIAPPA; KAUR, 2016); *K. terrigena* - águas superficiais e solos não poluídos, água potável e vegetação (PODSCHUN; FISCHER; ULLMANN, 2000); *K. planticola* - esgoto, águas superficiais poluídas, solos e vegetação (MORAIS et al., 2009); e *K. ozaenae/K. rhinoscleromatis* — dificilmente detectado (principalmente em humanos) (ENDAILALU et al., 2012).

*K. pneumoniae* representa um terço de todas as infecções Gram-negativas em geral. Juntamente com sua alta prevalência, esta espécie é uma importante fonte de resistência a antibióticos, dessa forma, assim como outros patógenos altamente resistentes, foi classificado como um organismo ESKAPE (VENEZIA; KONDRATYEVA; CARATTOLI, 2017).

ESKAPE é um acrônimo para o grupo de patógenos que apresentam resistência a antibióticos, ou seja, têm a capacidade de escapar da ação biocida dos antibióticos, havendo aumento da resistência desses patógenos virulentos a agentes antibacterianos com sua crescente prevalência como patógenos nosocomiais.

(SANTAJIT; INDRAWATTANA, 2016; TIGABU; GETANEH, 2021)

Dois tipos de resistência a antibióticos têm sido observados em *K. pneumoniae*. O primeiro mecanismo envolve a expressão de  $\beta$ -lactamases de espectro estendido (ESBLs), que tornam as bactérias resistentes a cefalosporinas e monobactâmicos. O outro mecanismo de resistência, ainda mais preocupante, é a expressão de carbapenemases por *K. pneumoniae*, que torna a bactéria resistente a quase todos os  $\beta$ -lactâmicos disponíveis, incluindo os carbapenêmicos (PACZOSA; MECSAS, 2016).

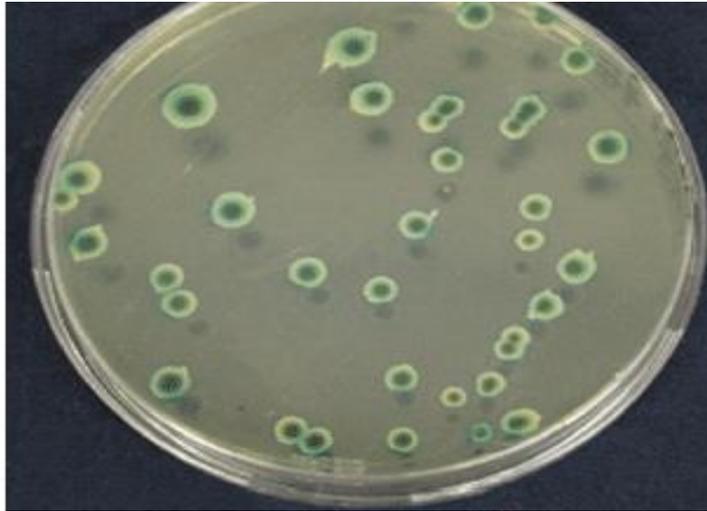
#### **3.4.4 *Candida albicans***

O número total de espécies eucarióticas na terra foi estimado em 8,7 milhões, com os fungos representando aproximadamente 7% desse número. De todos os fungos, apenas cerca de 600 espécies são patógenos humanos. Este grupo relativamente pequeno abrange fungos que causam infecções leves da pele (por exemplo, dermatófitos e de *Malassezia*), fungos que causam infecções cutâneas graves (por exemplo, *Sporotrix schenckii*) e fungos que têm o potencial de causar infecções sistêmicas potencialmente fatais (por exemplo, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Candida albicans*) (MAYER; WILSON; HUDE, 2013).

A maior parte das infecções de caráter fúngico nos seres humanos é causada por fungos oportunistas. A *Candida* é um fungo diplóide e polimórfico responsável pelo desenvolvimento de várias doenças. Em condições normais, este fungo é habitante natural do organismo humano, estando presente no trato gastrointestinal e regiões mucocutâneas, incluindo boca e vagina, sendo considerado um organismo comensal no qual não implica em quaisquer efeitos prejudiciais à sua saúde. Entre 25% e 75% dos indivíduos saudáveis podem apresentar *Candida* spp. Entre as mulheres, cerca de 20 a 30% apresentam colonização na mucosa vaginal,

sendo *Candida albicans* (figura 03) a espécie mais prevalente (ROSSI et al., 2011; SERRACARBASSA; DOTTO, 2003).

**Figura 03:** *Candida albicans*



Fonte: SÁ et al., 2014

As infecções por *C. albicans* podem ser classificadas em pelo menos quatro tipos diferentes: colonização, infecções superficiais, infecções profundas e infecções sistêmicas. Durante a colonização, *C. albicans* vive em equilíbrio com a flora microbiana normal nas superfícies mucosas sem causar danos ao seu hospedeiro. A maioria da população humana é colonizada assintomaticamente por *C. albicans*, mas infecções superficiais podem ocorrer quando o equilíbrio microbiótico é perturbado ou o sistema imunológico do hospedeiro está comprometido. As infecções orais (figura 04) são extremamente comuns entre certos pacientes imunocomprometidos (por exemplo, pacientes com HIV). Pacientes hospitalizados com certos fatores de risco estão predispostos a candidíase sistêmica com risco de vida, caracterizada por disseminação pela corrente sanguínea e infecção de órgãos internos (JACOBSEN et al., 2012).

**Figura 04:** infecção oral por *C. albicans*



Fonte: FERNANDES; PEREZ; PEREZ 2020

Em 1996, o Stanford Technology Center, Genome, realizou o sequenciamento do genoma de *C. albicans*. O sequenciamento foi concluído em 2004 e subseqüentemente os genomas de outras espécies de *Candida* de importância médica foram sequenciados, o que mudou profunda e irreversivelmente as formas de estudar as espécies de *Candida*. O genoma de *C. albicans* é altamente dinâmico, e essa variabilidade tem sido utilizada com vantagem em estudos epidemiológicos populacionais e moleculares nesta espécie (QUINTANA et al., 2017).

## 4 RESULTADOS

Os resultados dessa dissertação estão apresentados na forma de artigo.

### **Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica do óleo essencial de *Eugenia uniflora* frente a microrganismos de importância clínica**

Bruno José da Silva Bezerra<sup>a</sup>, Natan Cordeiro da Silva<sup>a</sup>, Maísa Fernanda dos Santos Barbosa<sup>a</sup>, Irivânia Fidelis da Silva Aguiar<sup>a</sup>, Rafael Artur de Queiroz Cavalcanti de Sá<sup>a</sup>, Maria Betânia Melo de Oliveira<sup>a</sup>, Fernanda Miguel de Andrade<sup>a</sup>, Maria Tereza dos Santos Correia<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE

#### **Resumo**

A resistência dos microrganismos aos fármacos é um dos maiores desafios da saúde pública enfrentados na contemporaneidade. Dessa forma, é explícita a necessidade de novos agentes com potencial antimicrobiano, surgindo então a fitoterapia, através das plantas medicinais, como uma forte aliada no combate a esse problema de saúde pública. *Eugenia uniflora* L. é uma frutífera, popularmente conhecida como pitangueira, fortemente utilizada na medicina popular. De acordo com a literatura, essa espécie apresenta atividade antimicrobiana, antioxidante e diurética. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antibacteriano e antifúngico do óleo essencial de *E. uniflora* frente a *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, microrganismos patogênicos. Após a coleta e identificação da espécie, o óleo essencial das folhas de *E. uniflora* foi obtido através do método de hidrodestilação. A Concentração Inibitória Média foi determinada pela técnica de microdiluição. A cada um dos 6 poços de uma das linhas da placa foi inicialmente adicionado 100 µL de meio de cultura seguido de 100 µL do óleo essencial de *E. uniflora* na concentração de 2.000 µg/mL. O último poço da placa foi utilizado como controle de crescimento. O último poço da placa foi utilizado como controle de crescimento. Ainda foram utilizados os fármacos Cetoconazol® para fungos, e Eritromicina® para bactérias como controles positivos. Todos os testes e controles foram realizados em triplicata para cada

microrganismo. A leitura da absorbância dos poços foi executada em aparelho de espectrofotometria de ELISA (Termoplate®). Observou-se que o óleo essencial de *E. uniflora* apresentou ação sobre todos os microrganismos, com dosagens relativamente baixas sobre as bactérias, destacando-se sua atividade perante *C. albicans*. Todas as cepas testadas mostraram inibição de acordo com sua curva de crescimento, no entanto, para as bactérias, o resultado se mostrou melhor para o antibiótico. Para o fungo, o óleo essencial de *E. uniflora* promoveu maior acentuação da curva de crescimento em relação ao antifúngico padrão. Dessa forma, observou-se que o óleo essencial de *E. uniflora* apresenta potencial antibacteriano e antifúngico, podendo ser um produto promissor no combate a resistência microbiana.

### **Abstract**

The resistance of microorganisms to drugs is one of the greatest public health challenges faced in contemporary times. Thus, the need for new agents with antimicrobial potential is explicit, thus emerging phytotherapy, through medicinal plants, as a strong ally in the fight against this public health problem. *Eugenia uniflora* is a fruit tree, popularly known as pitangueira, heavily used in folk medicine. According to the literature, this species has antimicrobial, antioxidant and diuretic activity. Therefore, the objective of this study was to evaluate the antibacterial and antifungal potential of the essential oil of *E. uniflora* against *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, pathogenic microorganisms. After collecting and identifying the species, the essential oil from the leaves of *E. uniflora* was obtained through the hydrodistillation method. The IC<sub>50</sub> was determined by the microdilution technique. To each of the 6 wells of one of the lines of the plate, 100 µL of culture medium and fungal suspension were initially added, followed by 100 µL of the natural product at a concentration of 2,000 µg/mL. The last well of the plate was used as a growth control. The drugs ketoconazole for fungi and erythromycin for bacteria were also used for positive control of the activity. All tests and controls were performed in triplicate for each microorganism. Reading the absorbance of the wells was performed in an ELISA spectrophotometry device (Termoplate®). It was observed that the essential oil of *E. uniflora* acted on all microorganisms, with relatively low dosages on bacteria, highlighting its activity

against *C. albicans*, in which the IC50 was verified with dosages 44.72% lower than of the control drug. All strains tested showed inhibition according to their growth curve, however the result was better for the antibiotic used in the bacteria. For the fungus, the EO promoted greater accentuation of the growth curve in relation to the antifungal. Thus, it seems that *E. uniflora* EO has antibacterial and antifungal potential, and may be a promising product to combat microbial resistance.

**Keywords:** microbial resistance, antimicrobials, microorganisms, myrtaceae, eugenia uniflora

## Introdução

Em 1945, o microbiólogo Alexander Fleming alertou para os perigos da dependência excessiva de antibióticos, e para a importante ameaça de bactérias decorrente do desenvolvimento de resistência. Depois de mais de sessenta anos, sua previsão sobre a resistência microbiana foi concretizada (CABRAL et al., 2018). Fleming, ao descobrir a penicilina, foi o primeiro a observar a resistência natural de microrganismos aos antibióticos, descrevendo que bactérias do grupo colilifóide e a *Pseudomonas aeruginosa* não eram inibidas pelo antibiótico. Anos mais tarde, os estudiosos Abraham e Chain, demonstraram em extratos de *Escherichia coli* uma enzima que promove a destruição da ação da penicilina, denominada de penicilinase (TAVARES 2000).

Os antimicrobianos são caracterizados, de forma genérica, como qualquer substância capaz de atuar em bactérias, interferindo no seu crescimento e/ou multiplicação de outros microrganismos, como os vírus, fungos e parasitas (SAMPAIO; SANCHO; LAGO, 2018). A resistência antimicrobiana é considerada um dos maiores perigos para a saúde pública mundial na contemporaneidade, uma vez que as infecções causadas por esses patógenos podem ser de difícil tratamento, colaborando com custos mais elevados, prolongamento da internação, e o risco iminente de morte (DALMOLIN et al., 2022; MARMITT et al., 2015).

Sabe-se que, no ambiente hospitalar, principalmente em setores fechados de maior complexidade, como as Unidades de Terapia Intensiva (UTI), os pacientes hospitalizados são suscetíveis a infecções nosocomiais, decorrentes de procedimentos invasivos e exposição contínua a microrganismos perigosos (OLIVEIRA et al., 2021). Dessa forma, as UTI são consideradas como epicentros da

resistência antimicrobiana (MELLO; OLIVEIRA 2021). Em estudos que avaliaram a ocorrência de microrganismos multirresistentes em UTI, foi possível observar a presença de várias espécies naquele espaço, entre elas, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* (ALVES et al., 2012; ANDRADE; LEOPOLDO; HAAS 2006), *Enterococcus faecalis* (RENNER; CARVALHO 2023), e *Candida albicans* (SIQUEIRA et al., 2015). O primeiro destacando-se como o agente mais causador das infecções hospitalares (SANTOS 2004). *S. aureus*, *K. pneumoniae*, e outros patógenos foram apelidados de “patógenos Eskape”, capazes de escapar da ação biocida dos antibióticos, ou seja, desenvolvem mecanismos de resistência aos fármacos (OLIVEIRA et al., 2020; PENDLETON; GORMAN; GILMORE 2013).

Tendo em vista o aumento da resistência dos microrganismos aos nossos antimicrobianos atuais, fica evidente a necessidade de novos agentes com atividade antimicrobiana, e a fitoterapia surge como uma fonte de fármacos naturais que podem tanto tratar doenças quanto promover o bem-estar (MEDEIROS et al., 2023).

A utilização de plantas medicinais com finalidade terapêutica é uma das formas mais antigas de prática medicinal utilizada pelos povos (RODRIGUES et al., 2011; JUNIOR; PINTO; MACIEL 2005; MACIEL et al., 2002;). As plantas constituem um valioso arsenal de produtos químicos, orgânicos e inorgânicos com diferentes potenciais para exploração pelo homem. A segurança e a eficácia das plantas medicinais dependem da identificação da planta, conhecimento sobre a parte a ser usada, forma de uso e dose, além do modo de preparo, reveladas pela literatura (PEDROSO; ANDRADE; PIRES 2021). A partir das plantas medicinais, surgem os Óleos Essenciais (OE), elementos compostos principalmente por terpenoides voláteis, produzidos pelo metabolismo secundário de plantas aromáticas, característicos pela sua fragrância e atividades biológicas (BUSATO et al., 2014), como por exemplo, o seu potencial antibacteriano (SANTOS; PICOLLI; TEBALDI 2017), e antifúngico (LIMA et al., 2006).

A família Myrtaceae compreende em média 130 gêneros e 4.000 espécies de plantas lenhosas, arbustivas ou arbóreas, com folhas de disposição alterna ou oposta (ALVES; TRESMONDI; LONGUI 2008). O gênero *Eugenia* é um dos maiores da família Myrtaceae, com mais de 500 espécies. Dentro desse gênero tem-se *Eugenia uniflora* L, uma frutífera, popularmente chamada de pintagueira. No Brasil, essa espécie é encontrada desde o estado do Amazonas até o Rio Grande do Sul, sendo fortemente utilizado na medicina popular como fármaco anti-hipertensivo e

antirreumático (AURICCHIO et al., 2007). Ensaios farmacológicos realizados com os extratos das folhas de *E. uniflora* evidenciaram a atividade antibacteriana contra alguns microrganismos patogênicos (FIUZA et al., 2008). Além disso, *E. uniflora* apresenta outras atividades biológicas, tais como: antioxidante, hipotensora, anti-hipertensiva e diurética (SOUZA et al., 2014), e a literatura aponta para a atividade antibacteriana do OE dessa espécie (NASCIMENTO et al., 2019).

Sabendo dos impactos negativos da resistência microbiana na saúde pública, além das propriedades dos OE e de *E. uniflora*, esse estudo teve como objetivo avaliar o potencial antibacteriano e antifúngico do óleo essencial de *E. uniflora* frente a *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, microrganismos potencialmente patogênicos.

## **Material e Método**

### **Coleta do material vegetal e extração do óleo essencial**

As folhas de *E. uniflora* foram coletadas no Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco. Após a coleta, as amostras foram levadas ao Laboratório de Produtos Naturais para posterior extração do OE.

O Óleo Essencial de *Eugenia uniflora* (OeEu) foi obtido pelo método de hidrodestilação. Após a fragmentação das folhas, a biomassa formada (500 g) foi inserida em balão volumétrico contendo água destilada. Posteriormente, o balão foi acoplado ao extrator e levado à manta aquecedora. Ao condensador, foi conectado o sistema de refrigeração. Em seguida, a manta aquecedora foi ligada, regulada a temperatura de ebulição da água (100°C), em mistura com a biomassa, iniciando o processo de extração do OeEu. Ao final, 1ml de OE foi coletado com uma pipeta e armazenado sob refrigeração.

### **Microrganismos e Meios de cultura utilizados**

Para a avaliação da atividade antifúngica, foi utilizada uma cepa padrão: *C. albicans* (ATCC 90028). Para avaliação da atividade antibacteriana foram utilizadas as cepas *E. faecalis* (UFPEDA 1380), *K. pneumoniae* (UFPEDA 396), e *S. aureus* (UFPEDA 02), gentilmente cedidas pelo Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco.

## Ensaio de Microdiluição em Caldo

No teste de microdiluição foram utilizados os meios líquidos, Caldo Mueller-Hinton (para bactérias) e Caldo Sabouraud Dextrose (para *C. albicans*). Todos os meios foram solubilizados com água destilada e esterilizados em autoclave, a 121 °C por 15 minutos.

A Concentração Inibitória Média (IC<sub>50</sub>) foi determinada pela técnica de microdiluição em placa contendo 96 poços. Primeiramente 0,20 µg do OE de *E. uniflora* foram diluídos em DMSO e depois em água, atingindo uma concentração final de 2.000 µg/mL. Na preparação dos inóculos as células foram suspensas em salina a 0,9% e sua concentração seguiu o padrão de turvação equivalente a 10<sup>5</sup> Unidades Formadoras de Colônias/mL.

A cada um dos 6 poços de uma das linhas da placa foi inicialmente adicionado 100 µL de meio de cultura, posteriormente, 100 µL do produto natural na concentração de 2.000 µg/mL. Foi depositado no primeiro poço, sendo em seguida, realizada a microdiluição seriada até o penúltimo, onde as concentrações variaram de 1.000 a 16 µg/mL. O último poço foi utilizado como controle de crescimento. Também foi utilizada a droga convencional como controle positivo da atividade, cetoconazol para fungos e eritromicina para bactérias. Todos os testes e controles foram realizados em triplicata para cada microrganismo.

Por fim, as placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e após este período foi feita a leitura da absorbância dos poços em aparelho de espectrofotometria de ELISA (Termoplate®). Os valores das absorbâncias foram utilizados para obtenção de uma curva de viabilidade celular. A IC<sub>50</sub> foi determinada por análise de regressão (ALVES et al., 2013).

## Análise estatística

Em todas as análises foi utilizado o programa *Graphpad prism* versão 8.0.2, considerando  $\alpha = 0,05$ . Os dados obtidos no ensaio de microdiluição, foram expressos em média  $\pm$  desvio. Os valores de IC<sub>50</sub> foram expressos em µg/mL e analisados por regressão não linear utilizando a concentração do inibidor *versus* a resposta normalizada.

## Resultados e discussão

Após o processo de extração do Óleo Essencial de OeEu foi obtido 1 mL do produto, 2% de rendimento.

Na tabela 1 pode ser observada a concentração do OeEu, do antibiótico e do antifúngico necessários para inibir 50% do crescimento dos microrganismos. De acordo com estes resultados é possível inferir que as quatro cepas (*C. albicans*, *E. faecalis*, *S. aureus* e *K. pneumoniae*) mostraram-se sensíveis à ação do OE testado.

Tabela 01 Comparativo entre IC<sub>50</sub> do OeEu, e o dos fármacos cetoconazol e eritromicina

Microrganismo	Tratamento	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
<i>C. albicans</i>	OeEu	75, 23 ± 3,7
	Cetoconazol	136,1 ± 5,9
<i>E. faecalis</i>	OeEu	10,93 ± 6,2
	Eritromicina	0,25 ± 0,8
<i>K. pneumoniae</i>	OeEu	8,88 ± 7,1
	Eritromicina	0,7 ± 1,6
<i>S. aureus</i>	OeEu	10,01 ± 1,7
	Eritromicina	0,81 ± 0,4

Para as bactérias a droga de controle escolhida demonstrou uma IC<sub>50</sub> inferior ao do OeEu, porém o óleo continua demonstrando atividade antimicrobiana contra esses microrganismos, pois foi preciso o uso de concentrações significativamente baixas para inibir 50% dessas bactérias. O efeito mais relevante do OeEu foi observado frente ao fungo *C. albicans*, no qual uma IC<sub>50</sub> foi constatada com dosagens 44,72% menores que do fármaco de controle, o cetoconazol, ou seja, o OeEu promoveu uma maior inibição do crescimento desse fungo.

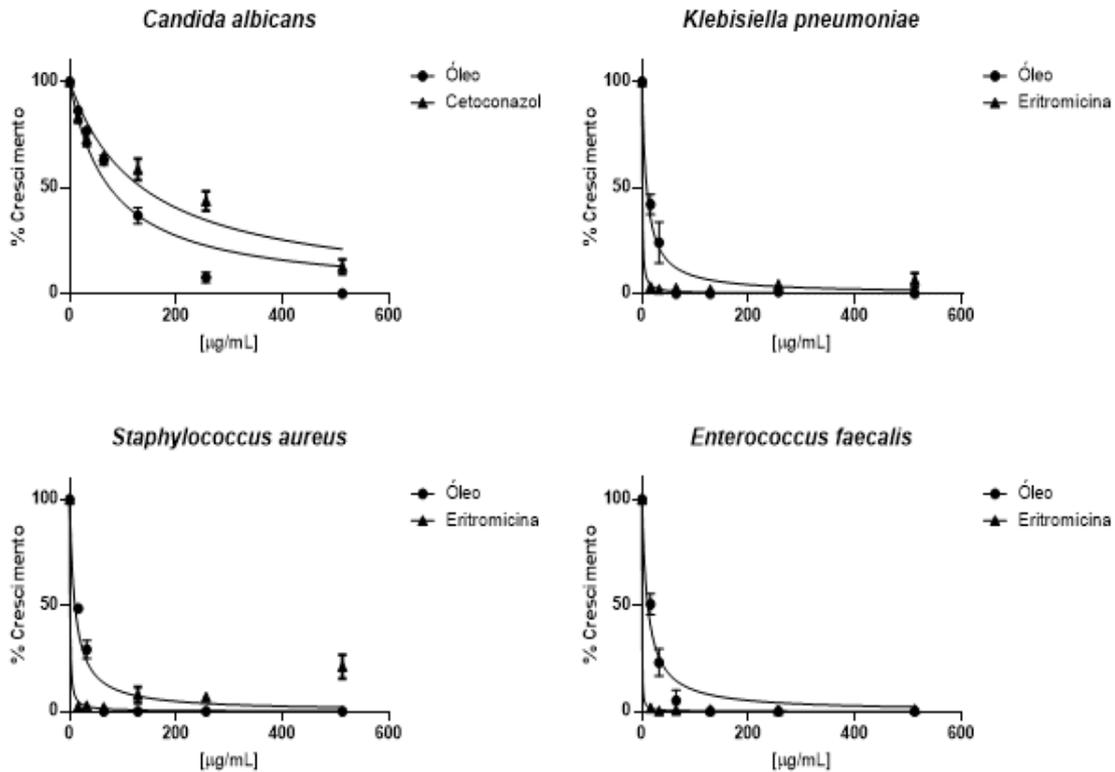
Para *E. faecalis* a CI<sub>50</sub> do OeEu foi de 10,93 µg/mL, *S. aureus* foi de 10,01 µg/mL, e *K. pneumoniae* de 8,88 µg/mL, sendo então a menor IC<sub>50</sub> do óleo perante as bactérias. O antibiótico testado, eritromicina, apresentou IC<sub>50</sub> menor em relação ao OeEu frente às bactérias testadas. Ambos demonstraram potencial de inibição do crescimento bacteriano, com o antibiótico se destacando.

Auricchio et al. (2007), ao avaliar as atividades antimicrobiana e antioxidante do extrato de *E. uniflora*, observou que os microrganismos submetidos aos testes apresentaram maiores índices de Concentração Inibitória Mímica (CIM) em comparação aos antibióticos avaliados. Por exemplo, frente à bactéria Gram-positiva *S. aureus*, o extrato da planta teve um CIM de 80 µg/mL, em contrapartida, o resultado da ampicilina foi de 10 µg/mL, ou seja, bem inferior aos valores do extrato da planta. Os autores ainda observaram que o extrato de *E. uniflora* também inibe o crescimento de *C. albicans*. O CIM do extrato foi de 500 µg/mL, e de 11 µg/mL para o antifúngico, nesse caso esse resultado difere ao do presente estudo.

Estudos sobre a avaliação fitoquímica das folhas de *E. uniflora* demonstram a presença de antraquinonas, esteroides, triterpenos, heterosídeos de flavonoides, de saponina e de taninos, sesquiterpenos, compostos fenólicos, antocianinas, flavonoides e carotenoides, sugerindo assim, um importante potencial fitoterápico (DALMAGRO et al., 2022). Além disso, as folhas ricas em OE contendo os metabolitos citados têm demonstrado a sua capacidade antimicrobiana (FIUZA et al., 2008).

Na figura 05 é possível observar como se deu o crescimento dos microrganismos quando expostos ao OE e aos fármacos controle durante um período de 24 horas.

Figura 05: Curvas de crescimento dos microrganismos na presença do OeEu, e dos fármacos cetozonazol e eritromicina



A análise, demonstrada pelo gráfico, foi realizada correlacionando o crescimento microbiológico em relação a diferentes dosagens. Percebe-se que a inibição do crescimento microbiano está diretamente relacionada ao aumento da concentração do OeEu e do controle positivo, ou seja, quanto maior a dosagem, maior a inibição. Em todos os casos, observa-se uma maior acentuação na curva dos medicamentos, exceto para *C. albicans*. Percebe-se que este fungo teve maior inibição de crescimento quando exposto ao OeEu, com menor inibição frente ao cetoconazol. Assim como observado para *C. albicans*, as cepas bacterianas também apresentaram inibição de crescimento quando expostas aos produtos, no entanto, é possível observar maior poder de inibição na exposição ao antibiótico, dado exposto pela curva de crescimento.

De acordo com a literatura, o OeEu frente a bactérias multirresistentes isoladas da mastite bovina, em medida homeopática, não apresentou efeito inibitório sobre os microrganismos analisados, somente quando combinados aos fármacos é que foi visto efeito sobre as cepas estudadas, ou seja, com sinergismo (VIANNA; DIEL; BURIN 2022). Para Gonçalves, Filho e Menezes (2022), o extrato isolado do

fruto da popular pitangueira, demonstrou ter potencial antimicrobiano, no qual bactérias como *S. aureus* e *E. coli* apresentaram sensibilidade aos extratos. Diferentemente do presente estudo, na pesquisa de Lima et al. (2006), o OeEu apresentou um baixo poder de inibição sobre as cepas de *Candida*. Neste estudo, o resultado para *C. albicans*, foi relativamente mais significativo do que nas cepas bacterianas.

Um estudo envolvendo a atividade antimicrobiana de óleos essenciais extraídos de folhas e frutos de *E. uniflora*, colhidos em estágios diferentes de maturação aponta que seu estado acaba influenciando nos resultados em microrganismos, como *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, e *C. albicans*. A capacidade antimicrobiana de *E. uniflora* pode ser explicada pela presença de fenólicos e outros compostos em extratos que podem destruir a parede bacteriana, permitindo sua entrada nas células afetando diretamente seu metabolismo (SOUZA et al., 2018). É possível observar que os estudos já realizados objetivando avaliar a atividade antimicrobiana de *E. Uniflora* diferem em relação aos resultados obtidos, mesmo utilizando-se praticamente as mesmas espécies de microrganismos. O OeEu, que teve as amostras coletadas no Município de Seropédica - RJ, revelou a presença de, principalmente, sesquiterpenos em sua composição química. Comparando-se tal composição química com a da Nigéria, verificou-se que os componentes e as concentrações das substâncias no óleo revelam-se muito complexas e, conseqüentemente, tal diversidade pode ser postulada como conseqüência das condições edafoclimáticas de cada região (SANTOS; FILHO; CASTRO 2015).

## Conclusão

Levando em consideração que as cepas testadas neste estudo apresentam resistência a diversos medicamentos, percebe-se que o óleo essencial de *Eugenia uniflora* possui atividade antimicrobiana, pois, conseguiu inibir o crescimento de todos os microrganismos testados. Apresentou ação contra as bactérias demonstrando seu potencial antibacteriano, e também contra o fungo, garantindo sua atividade antifúngica, assim, temos um produto de origem natural que parece capaz de ser empregado contra microrganismos patogênicos.

## Referências

- ALVES, E. S.; TRESMONDI, F.; LONGUI, E. L. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L.(Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, p. 241-248, 2008.
- ALVES, L. N. S. et al. Hemoculturas: estudo da prevalência dos microrganismos e o perfil de sensibilidade dos antibióticos utilizados em Unidade de Terapia Intensiva. **J Health Sci Inst**, v. 30, n. 1, p. 44-7, 2012.
- ALVES, L. A. et al. Effect of *Schinus terebinthifolius* on *Candida albicans* growth kinetics, cell wall formation and micromorphology. **Acta Odontol. Scand.** v.71, p.965–971, 2013.
- ANDRADE, D.; LEOPOLDO, V. C.; HAAS, V. J. Ocorrência de bactérias multiresistentes em um centro de Terapia Intensiva de Hospital brasileiro de emergências. **Revista brasileira de Terapia intensiva**, v. 18, p. 27-33, 2006.
- AURICCHIO, M. T. et al. Atividades antimicrobiana e antioxidante e toxicidade de *Eugenia uniflora*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 1, p. 76, 2007.
- BUSATO, N. V. et al. Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor. **Ciência Rural**, v. 44, p. 1574-1582, 2014.
- CABRAL, L. G. et al. Racionalização de antimicrobianos em ambiente hospitalar. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 16, n. 1, p. 59-63, 2018.
- DALMAGRO, M. et al. Teste de sinergismo da atividade antimicrobiana dos extratos de *Eugenia uniflora* e própolis por método de checkerboard. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, p. 1-8, 2022.
- DALMOLIN, J. et al. Mecanismos de expressão de resistência aos antibióticos e saúde pública. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 26, n. 3, 2022.
- FIUZA, T. S. et al. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L.(Myrtaceae). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 2, 2008.
- GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 353-358, 2022.
- JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.
- LIMA, I. O. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 197-201, 2006.
- MARMITT, D. J. et al. Plantas com potencial antibacteriano da relação nacional de plantas medicinais de interesse do sistema único de saúde: revisão

sistemática. **Revista de saúde pública de Santa Catarina**, v. 8, n. 2, p. 135-152, 2015.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, v. 25, p. 429-438, 2002.

MEDEIROS, M. A. A. et al. Evaluation of the antibacterial activity of trans-anethole against *Enterococcus cloacae* and *Enterococcus faecalis* strains of food origin. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, 2023.

MELLO, M. S.; OLIVEIRA, A. C. Panorama das ações de combate à resistência bacteriana em hospitais de grande porte. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 29, 2021.

NASCIMENTO, L. D. et al. Rendimento e Composição Química do Óleo Essencial das Folhas de *Eugenia uniflora* L. em Diferentes Tempos de Extração. **Pesquisa na Cadeia de Suprimentos de Plantas Aromáticas**, p. 48-58, 2019.

OLIVEIRA, D. M. et al. Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. **Clinical microbiology reviews**, v. 33, n. 3, p. e00181-19, 2020.

OLIVEIRA, A. E. M. et al. Intervenção na antibioticoterapia de uso restrito na unidade de terapia intensiva: revisão sistemática. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 33453-33476, 2021.

PEDROSO, R. S.; ANDRADE, G.; PIRES, R. H. Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 31, 2021.

PENDLETON, J. N.; GORMAN, S. P.; GILMORE, B. F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 11, n. 3, p. 297-308, 2013.

RENNER, J. D. P.; CARVALHO, E. D. Microrganismos isolados de superfícies da UTI adulta em um hospital do Vale do Rio Pardo–RS. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 3, n. 2, p. 40-44, 2013.

RODRIGUES, H. G. et al. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 13, p. 359-366, 2011.

SAMPAIO, P. S.; SANCHO, L. G.; LAGO, R. F. Implementação da nova regulamentação para prescrição e dispensação de antimicrobianos: possibilidades e desafios. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 26, p. 15-22, 2018.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto-Enfermagem**, v. 13, p. 64-70, 2004.

SANTOS, F. R.; FILHO, R. B.; CASTRO, R. N. Influência da idade das folhas de *Eugenia uniflora* na composição química do óleo essencial. **Química Nova**, v. 38, p. 762-768, 2015.

SANTOS, C. H.; PICCOLI, R. H.; TEBALDI, V. M. R. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 76, p. 1-8, 2017.

SIQUEIRA, J. S. et al. Candidiase oral em pacientes internados em UTI. **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 71, n. 2, pág. 176, 2015.

SOUZA, C. E. S. et al. Avaliação da atividade antioxidante e citoprotetora dos extratos de *Eugenia uniflora* Lineau e *Psidium soubreleanum* Proença & Landrum contra metais pesados. **Revista Ciencias de la Salud**, v. 12, n. 3, p. 401-409, 2014.

SOUZA, J. M. et al. Evaluation of antimicrobial, hypotensive and diuretic effect of *Eugenia uniflora* extracts. **Mundo Da Saude**, v. 42, p. 269-275, 2018.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, p. 281-301, 2000.

VIANNA, G.; DIEHL, V. B.; BURIN, M. R. Avaliação do potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Eugenia uniflora* sobre microrganismos causadores da mastite bovina. **Revista Interdisciplinar em Ciências da Saúde e Biológicas**, v. 6, n. 1, p. 35-46, 2022.

## 5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nesse estudo, podemos afirmar que o óleo essencial de *E. uniflora* apresenta atividade antimicrobiana, pois conseguiu inibir o crescimento de bactérias e do fungo, garantindo potencial antibacteriano e antifúngico, respectivamente, assim, temos um produto de origem natural que parece capaz de ser empregado contra microrganismos patogênicos.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, E. S.; TRESMONDI, F.; LONGUI, E. L. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L.(Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, p. 241-248, 2008.
- AMORIM, I. P.; SILVA, J. P. N.; BARBEDO, C. J. As sementes de *Eugenia* spp.(Myrtaceae) e seus novos conceitos sobre propagação. **Hoehnea**, v. 47, 2020.
- ARNOUS, A. H.; SANTOS, A. S.; BEINNER, R. P. C. Plantas medicinais de uso caseiro-conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista espaço para a saúde**, v. 6, n. 2, p. 1-6, 2005.
- ASPERGER, H. et al. *Staphylococcus aureus*. **The significance of pathogenic microorganisms in raw milk.**, p. 24-42, 1994.
- AVILA, A. L. de et al. Maturação fisiológica e coleta de sementes de *Eugenia uniflora* L.(pitanga), Santa Maria, RS. **Ciência Florestal**, v. 19, p. 61-68, 2009.
- BAGLEY, S. Habitat Association of *Klebsiella* Species. **Infection Control Hospital Epidemiology**, v. 06, p. 52-58, 2015.
- BEJARANO, K. A. O.; PÉREZ, M. G. C.; MORA, R. M. S. Resistencia microbiana desde una perspectiva metagenómica. **Nova**, v. 16, n. 29, p. 91-100, 2018.
- BENFATTI, C. S. et al. Atividade antibacteriana in vitro de extratos brutos de espécies de *Eugenia* sp frente a cepas de mollicutes. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 2, p. 33-39, 2010.
- BEZERRA, J. E. F. et al. Comportamento da pitangueira (*Eugenia uniflora* L) sob irrigação na região do vale do Rio Moxotó, Pernambuco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 26, p. 177-179, 2004.
- BHATIA, P. et al. Antibacterial activity of medicinal plants against ESKAPE: An update. **Heliyon**, v. 7, n. 2, p. e06310, 2021.
- BIERHALS, A. N. et al. *Eugeniomyia* dispar em pitangueira: parasitoides associados, dinâmica populacional e distribuição de galhas na planta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 109-115, 2012.
- BIZARRO, O. M. R.; MILLER, D. Z.; BLUM, C. T. Vegetative characterization and key of Myrtaceae species from a remnant of Araucaria Rainforest, Curitiba, Paraná. **Rodriguésia**, v. 72, 2021.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.
- BORGES, I. V. et al. Identificação da fração antimicrobiana do extrato da *Mimosa tenuiflora*. **Com Sci**, v.8, n.1, p.155-164, 2017.

CANZI, K. K.; COLACITE, J. Frequência de pneumonia associada à ventilação mecânica com base em resultados de culturas quantitativas de secreções traqueais. **RBAC**, v. 48, n. 2, p. 118-22, 2016.

CALIXTO, C. M. F.; CAVALHEIRO, E. T. G. Penicilina: efeito do acaso e momento histórico no desenvolvimento científico. **Química Nova na escola**, v. 34, n. 3, p. 118-123, 2012.

CARVALHO, C. R. R. Pneumonia associada à ventilação mecânica. **Jornal brasileiro de pneumologia**, v. 32, p. xx-xxii, 2006.

CASTRO, L. L. D. et al. Efeito in vitro e in vivo de extratos de *Eugenia uniflora* em nematódeos gastrintestinais de ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, 2019.

CEREZO, S. G. et al. Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. **Gaceta médica de México**, v. 156, n. 2, p. 172-180, 2020.

CIPRIANO, R. R.; MAIA, B. H.; DESCHAMPS, C. Chemical variability of essential oils of *Eugenia uniflora* L. genotypes and their antioxidant activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, 2021.

COSTA, D. P. et al. Seasonal variability of essential oils of *Eugenia uniflora* leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 1287-1293, 2009.

CRUZ, A. V. M.; KAPLAN, M. A. C. Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. **Floresta e ambiente**, v. 11, n. 1, p. 47-52, 2012.

CRUZ, M. A. L. et al. ESKAPE bacteria characterization reveals the presence of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* outbreaks in COVID-19/VAP patients. **American journal of infection control**, 2022.

DALMAGRO, M. et al. Teste de sinergismo da atividade antimicrobiana dos extratos de *Eugenia uniflora* e Propólis por método de Checkerboard. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, p. 1-8, 2022.

DEURENBERG, R. H.; STOBBERINGH, E. E. The evolution of *Staphylococcus aureus*. **Infection, genetics and evolution**, v. 8, n. 6, p. 747-763, 2008.

DEVIENNE, K. F.; RADDI, G.; POZETTI, G. L. Das plantas medicinais aos fitofármacos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, p. 11-14, 2004.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista MultiCiência**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

ECHEVERRIA, R. M. et al. Óleos essenciais: uma revisão de evidências científicas para o enfrentamento da pandemia. **REVISE-Revista Integrativa em Inovações Tecnológicas nas Ciências da Saúde**, v. 9, n. fluxocontínuo, p. 361-378, 2022.

ENDAILALU, Y. W. et al. Klebsiella ozaenae sepsis in a young healthy male. **The Malaysian Journal of Pathology**, v. 34, n. 2, p. 153, 2012.

FERNANDES, C. I. R.; PEREZ, L. E. C.; PEREZ, D. E. C. Manifestações orais incomuns de infecção viral por dengue. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 86, p. s3-s5, 2020.

FERREIRA, M. V. C.; PAES, V. R.; LICHTENSTEIN, A. Penicilina: oitenta anos. **Revista de Medicina**, v. 87, n. 4, p. 272-276, 2008.

FERREIRA, M. R. A. et al. In vitro antifungal activity and phytochemical characterization of Eugenia uniflora, Libidibia ferrea and Psidium guajava. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, 2021.

FERREIRA, M. R. A. et al. Safety evaluation of aqueous extract from Eugenia uniflora leaves: Acute and subacute toxicity and genotoxicity in vivo assays. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 298, p. 115668, 2022.

FURTADO, R. F. et al. Atividade larvicida de óleos essenciais contra Aedes aegypti L.(Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 843-847, 2005.

GONZÁLEZ, M. J. C.; MENA, A. J. P. Mecanismos de resistencia a antibióticos  $\beta$ -lactámicos en Staphylococcus aureus. **Kasmera**, v. 38, n. 1, p. 18-35, 2010.

GRANDI, T. S. M. et al. Plantas medicinais de minas gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 3, p. 185-224, 1989.

GRATTAPAGLIA, D. Progress in Myrtaceae genetics and genomics: Eucalyptus as the pivotal genus. **Tree Genetics & Genomes**, v. 8, n. 3, p. 463-508, 2012.

GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; MORELLATO, L. P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 29, p. 509-530, 2006.

GRIEBELER, A. M. et al. Water regime and substrate influence the growth of Eugenia uniflora seedlings. **BOSQUE**, v. 43, n. 1, p. 69-76, 2022.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, p. 667-679, 2010.

HILLEN, T. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos in vitro e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, p. 439-445, 2012.

JACOBSEN, I. D. et al. Candida albicans dimorphism as a therapeutic target. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 10, n. 1, p. 85-93, 2012.

JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

- KAYAOGLU, G.; ORSTAVIK, D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v. 15, n. 5, p. 308-320, 2004.
- KUHN, A. W. et al. Mutagenic and antimutagenic effects of *Eugenia uniflora* L. by the *Allium cepa* L. test. **Caryologia**, v. 68, n. 1, p. 25-30, 2015.
- KURODA, M. et al. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **The Lancet**, v. 357, n. 9264, p. 1225-1240, 2001.
- LEITE, J. P. V. Desenvolvimento da Fitoterapia. **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. n. 01, p.4-18, 2009.
- LEITE, B. et al. Antibiotic resistance in surface waters from a coastal lagoon of Southern Brazil under the impact of anthropogenic activities. **Rev Ambiente & Água**, v. 14, n. 5, 2019.
- LIMA, I. O., et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 197-201, 2006.
- LIMA, D. F.; GOLDENBERG, R.; SOBRAL, M. O gênero *Campomanesia* (Myrtaceae) no estado do Paraná, Brasil. **Rodriguésia**, v. 62, p. 683-693, 2011.
- LOVE, R. M. *Enterococcus faecalis*—a mechanism for its role in endodontic failure. **International endodontic journal**, v. 34, n. 5, p. 399-405, 2001.
- LOWY, F. D. *Staphylococcus aureus* infections. **New England journal of medicine**, v. 339, n. 8, p. 520-532, 1998.
- LOWY, F. D. et al. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. **The Journal of clinical investigation**, v. 111, n. 9, p. 1265-1273, 2003.
- MACHADO, B. F. M. T.; JÚNIOR, A. F. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos acadêmicos**, p. 105-127, 2011.
- MAIA, T. F.; DONATO, A.; FRAGA, M. E. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 1, p. 105-116, 2015.
- MARIANI, N. A. P. et al. Efeitos do extrato de *Eugenia uniflora* sobre parâmetros metabólicos e perfil lipídico de ratos hipertensos. **Revista Univap**, v. 22, n. 40, p. 375-375, 2016.
- MAYER, F. L.; WILSON, D.; HUBE, B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. **Virulence**, v. 4, n. 2, p. 119-128, 2013.
- MCBRIDE, S. M. et al. Genetic diversity among *Enterococcus faecalis*. **PloS one**, v. 2, n. 7, p. e582, 2007.

- MEYER, G.; PICOLI, S. U. Fenótipos de betalactamases em *Klebsiella pneumoniae* de hospital de emergência de Porto Alegre. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, p. 24-31, 2011.
- MORAIS, S. M. et al. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. **Química Nova**, v. 29, p. 907-910, 2006.
- MORAIS, V. P. et al. Enteric fever-like syndrome caused by *Raoultella ornithinolytica* (*Klebsiella ornithinolytica*). **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 868, 2009.
- MOURA, G. S. et al. *Eugenia uniflora* L.: potential uses as a bioactive plant. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, 2018.
- NASCIMENTO, P. F.C et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 108-113, 2007.
- NASCIMENTO, A.; PRADÉ, A. C. K. Aromaterapia: o poder das plantas e dos óleos essenciais. **Recife: Fiocruz-PE**, 2020.
- NISHIYAMA, M. et al. Prevalence of antibiotic-resistant bacteria ESKAPE among healthy people estimated by monitoring of municipal wastewater. **Antibiotics**, v. 10, n. 5, p. 495, 2021.
- OLIVEIRA, M. F. et al. Revendo o tratamento para pneumonia causada por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, 2022
- PACZOSA, M. K.; MECSAS, J. *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 80, n. 3, p. 629-661, 2016.
- PELACANI, M. G. N. et al. Biologia floral da pitangueira (*Eugenia uniflora* L., Myrtaceae). **Revista Argumento**, v. 2, n. 4, p. 17-20, 2000.
- PEREIRA, I. R. S.; MONTEIRO, I. G.; SIQUEIRA, L. P. Extrato da *Eugenia uniflora* L.(pitangueira) e sua ação anti-inflamatória em afecções dermatológicas – Uma revisão da literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 33630-33645, 2020.
- PINHO, L. et al. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoolicos das folhas de alecrim- pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. **Cienc Rural**, v. 42, n. 2, 2012.
- PIRIZ, M. A. et al. Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 16, p. 628-636, 2014.

PODSCHUN, R.; FISCHER, A.; ULLMANN, U. Characterization of *Klebsiella terrigena* strains from humans: haemagglutinins, serum resistance, siderophore synthesis, and serotypes. **Epidemiology & Infection**, v. 125, n. 1, p. 71-78, 2000.

QUEIROZ, J. M. G. de et al. Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. 2015.

QUINTANA, S. M. C. et al. Genoma de *Candida albicans* y resistencia a las drogas. **Revista Científica Salud Uninorte**, v. 33, n. 3, 2017.

RATHNAYAKE, I. U.; HARGREAVES, M.; HUYGENS, F. Antibiotic resistance and virulence traits in clinical and environmental *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 35, n. 5, p. 326-333, 2012.

RICE, L. B. Progress and challenges in implementing the research on ESKAPE pathogens. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 31, n. S1, p. S7-S10, 2010.

RODRIGUES, H. G. et al. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 13, p. 359-366, 2011.

ROMAGNOLO, M. B.; SOUZA, M. C. O gênero *Eugenia* L.(Myrtaceae) na planície de alagável do Alto Rio Paraná, estados de Mato Grosso do Sul e Paraná, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 529-548, 2006.

ROOSEVELT, Theodore. A vida extenuante: ensaios e palestras, p. 4, 1924

ROSSI, T. et al. Interações entre *Candida albicans* e hospedeiro. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 32, n. 1, p. 15-28, 2011.

SÁ, M. C. N. et al. Isolamento de *Candida* no esfregaço cérvico-vaginal de mulheres não gestantes residentes em área ribeirinha do Estado do Maranhão, Brasil, 2012. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 1, p. 10-10, 2014.

SALDANHA, D. M. S.; SOUZA, M. B. M.; RIBEIRO, J. F. O uso indiscriminado dos antibióticos: uma abordagem narrativa da literatura. **Rev Int Saúde**, v. 5, n. 1, p. 12-37, 2018.

SANTAJIT, S.; INDRAWATTANA, N. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. **BioMed research international**, v. 2016, 2016.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto & Contexto-Enfermagem**, v. 13, p. 64-70, 2004.

SANTOS, A. L. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, p. 413-423, 2007.

SANTURIO, J. M. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v. 37, p. 803-808, 2007.

SCALDAFERRI, L. G. et al. Formas de resistência microbiana e estratégias para minimizar sua ocorrência na terapia antimicrobiana: Revisão. **Pubvet**, v. 14, p. 163, 2020.

SCALON, S. P. Q. et al. Germinação e crescimento de mudas de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) sob condições de sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 23, p. 652-655, 2001.

SERRACARBASSA, P. D.; DOTTO, P. Endoftalmite por *Candida albicans*. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 66, p. 701-707, 2003.

SCHERER, R. et al. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 442-449, 2009.

SHIADEH, S. M. J. et al. Global prevalence of antibiotic resistance in blood-isolated *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*: a systematic review and meta-analysis. **Infection and drug resistance**, p. 2713-2725, 2019.

SILVA, C. V.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Fracionamento e germinação de sementes de *Eugenia*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, p. 86-92, 2005.

SILVA, J. G. da et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 572-577, 2007.

SILVA, F. F. M. et al. Análise da composição química do óleo essencial de capim santo (*Cymbopogon citratus*) obtido através de extrator por arraste com vapor d água construído com materias de fácil aquisição e baixo custo. **Holos**, v. 4, p. 144-152, 2014.

SILVA, A. T.; MAZINE, F. F. A família Myrtaceae na Floresta Nacional de Ipanema, Iperó, São Paulo, Brasil. **Rodriguésia**, v. 67, p. 203-224, 2016.

SILVEIRA, J. C. et al. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, 2012.

SINGH, L.; CARIAPPA, M. P.; KAUR, M. *Klebsiella oxytoca*: An emerging pathogen?. **Medical journal armed forces india**, v. 72, p. S59-S61, 2016.

SOBEH, M. et al. Perfil químico dos óleos essenciais de *Syzygium aqueum*, *Syzygium samarangense* e *Eugenia uniflora* e sua discriminação por meio de análise quimiométrica. **Química e Biodiversidade**, v.13, n.11, p.1537-1550, 2016.

SOUZA, C. E. S. et al. Avaliação da atividade antioxidante e citoprotetora dos extratos de *Eugenia uniflora* Lineau e *Psidium soubreleanum* Proença & Landrum contra metais pesados. **Revista Ciencias de la Salud**, v. 12, n. 3, p. 401-409, 2014.

SOUZA, P. S. O. et al. Taninos e Flavonoides das flores de *Eugenia uniflora* (Myrtaceae). **Quim. Nova**, v. 45, n. 9, p. 1083-1091, 2022.

STUART, C. H. et al. *Enterococcus faecalis*: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. **Journal of endodontics**, v. 32, n. 2, p. 93-98, 2006.

TEIXEIRA, A. R. et al. Resistência bacteriana relacionada ao uso indiscriminado de antibióticos. **Revista Saúde em Foco**, n. 11 2019.

TIGABU, A.; GETANEH, A. L. E. M. *Staphylococcus aureus*, ESKAPE bacteria challenging current health care and community settings: a literature review. **Clinical Laboratory**, v. 67, n. 7, p. 10.7754, 2021.

TOLEDO, A. G. et al. Antimicrobial, antioxidant activity and phytochemical prospection of *Eugenia involucrata* DC. leaf extracts. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, 2021.

TRANCOSO, M. D. et al. Projeto Óleos Essenciais: extração, importância e aplicações no cotidiano. **Revista Práxis**, v. 5, n. 9, 2013.

TRISTAN, A. et al. *Staphylococcus aureus*, 2006. **Emerging infectious diseases**, v. 13, n. 4, p. 594, 2007.

VALDÉS, M. A. S. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. **Revista Habanera de Ciencias Médicas**, v. 16, n. 3, p. 402-419, 2017.

VALENÇA, C. et al. Resistência microbiana associada ao covid-19. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-SERGIPE**, v. 7, n. 3, p. 11-11, 2022.

VALERIANO, C. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 14, p. 57-67, 2012.

VENEZIA, S. N.; KONDRATYEVA, K.; CARATTOLI, A. *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. **FEMS microbiology reviews**, v. 41, n. 3, p. 252-275, 2017.

VICTORIA, F. N. et al. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 8, p. 2668-2674, 2012.

VIEIRA, T. R. et al. Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae). **Química Nova**, v. 27, p. 536-539, 2004.

WATANABE, C. H. et al. Extração do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) por destilação por arraste a vapor e extração com etanol. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 76-86, 2006.

WYRES, K. L.; LAM, M. M.; HOLT, K. E. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 6, p. 344-359, 2020.