

Revista
Ciência, Tecnologia & Ambiente

Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. (Capim-Santo) sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*

Antimicrobial activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. (Capim-Santo) on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Gabriella Silva Rodrigues¹, Naiane Oliveira Santos¹, Jorge Luiz Fortuna^{2*}

¹Licenciadas em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado da Bahia – UNEB, Teixeira de Freitas, BA, Brasil.

²Laboratório de Microbiologia, Universidade do Estado da Bahia – UNEB, Teixeira de Freitas, BA, Brasil. *Autor para correspondência: jfortuna@uneb.br

Como citar: RODRIGUES, G.S.; SANTOS, N.O.; FORTUNA, J.L., 2020. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. (Capim-Santo) sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Revista Ciência, Tecnologia e Ambiente*, vol. 10, e10177. <https://doi.org/10.4322/2359-6643.10177>

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial (OE) das folhas de *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e verificar a possibilidade de sinergismo e/ou antagonismo do OE quando combinado com os antimicrobianos vancomicina e cloranfenicol. A extração do OE foi realizada com o sistema extrator tipo Clevenger. Para os testes, foram utilizadas cepas de *S. aureus* e *E. coli*, que foram ativadas e mantidas no Laboratório de Microbiologia da UNEB, Campus X. Utilizou-se placas de Petri contendo Ágar Müller-Hinton aplicando a metodologia de disco-difusão. Em três placas foram feitas as análises com o OE extraído do Clevenger onde em cada uma delas foram semeadas suspensões de *S. aureus* e depositados seis discos: um disco branco com solução salina (controle negativo); um disco do antimicrobiano vancomicina (controle positivo) e quatro discos com diferentes concentrações (100%; 50%; 25% e 12,5%) do OE diluído em Tween 80. A mesma técnica foi aplicada para o teste frente a *E. coli*, utilizando-se o antimicrobiano cloranfenicol. Houve atividade antimicrobiana do OE frente a *S. aureus* e *E. coli*. Ao verificar a combinação do OE com os antimicrobianos observou-se que não houve ação sinérgica ou antagonista tanto com a vancomicina, quanto com o cloranfenicol. Conclui-se que o OE de *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. possui atividade antimicrobiana sobre *S. aureus* e *E. coli*.

Palavras-chave: susceptibilidade, óleo vegetal, microrganismo, planta.

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the antimicrobial potential of essential oil (EO) from leaves of *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and to verify the possible synergism and/or antagonism of the EO when combined with the antimicrobials vancomycin and chloramphenicol. The extraction of the EO was performed with the Clevenger extractor system. For the tests, strains of *S. aureus* and *E. coli* were used, which were activated and maintained in the Microbiology Laboratory of UNEB, Campus X. The tests were performed using Petri dishes containing Müller-Hinton Agar and applying the disc-diffusion methodology. Analyses were performed using three dishes containing the EO extracted by the Clevenger. In each dish, suspensions of *S. aureus* were plated and six discs were deposited: a white disc with saline solution (negative control); one disc of the antimicrobial vancomycin



(positive control), and four discs with different concentrations (100%, 50%, 25% and 12.5%) of the diluted EO in Tween 80. The same procedure was applied for the test against *E. coli*, using the chloramphenicol antimicrobial. Results show that there was antimicrobial activity of the EO against *S. aureus* and *E. coli*. The analysis of the combination of EO with antimicrobials suggests that there was no synergistic or antagonistic action, both with vancomycin and chloramphenicol. In conclusion, the results of this work show that the EO of *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. presents antimicrobial activity against *S. aureus* and *E. coli*.

Keywords: susceptibility, vegetable oil, microorganism, plant.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais pela humanidade tem seus registros desde a antiguidade. Há relatos pictóricos de seis mil anos atrás, entre os egípcios, sobre práticas associadas à cura de males, através dos aromas obtidos de partes específicas de certos vegetais, como resinas, folhas, flores, sementes etc. (Siani et al., 2000).

No decorrer dos anos, a utilização de plantas medicinais como recurso fitoterápico tem crescido em frequência. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% da população mundial recorre às plantas medicinais para suprir suas necessidades primárias de saúde (Colussi et al., 2011).

Dentre os componentes utilizados na medicina popular encontram-se os óleos essenciais (OE). Estes são considerados os elementos antimicrobianos mais importantes, presentes em plantas, pois representam potenciais princípios ativos que podem ser utilizados como defensivos no combate de insetos, bactérias e fungos (Mengai, 2010).

Os OE são produtos voláteis do metabolismo secundário de plantas aromáticas, formados em células especiais e encontrados em folhas, flores, sementes, cascas, tubérculos, caules e raiz (Bizzo et al., 2009; Pereira, 2006). Os mesmos são constituídos de substâncias terpênicas (pequenas moléculas compostas por hidrocarbonetos que ocorrem em plantas e animais) e eventualmente, de fenilpropanóides, acrescidos de moléculas menores, como álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas de cadeia curta (Siani et al., 2000).

Por apresentar princípios ativos com alto potencial no controle de microrganismos, os OE têm sido uma alternativa muito utilizada como produtos antissépticos, anti-inflamatórios e antibacterianos, exercendo papel fundamental na defesa contra microrganismos e

predadores e, também, na atração de insetos e outros agentes fecundadores (Probst, 2012; Siani et al., 2000).

Estes componentes fitoterápicos representam uma opção para aqueles que procuram hábitos saudáveis e segurança alimentar (Pereira, 2006). De acordo com Vilaça et al. (2005), os OE possuem propriedades farmacológicas que conferem sua utilização como analgésicos, sedativos, expectorantes, estimulantes e estomáticos na composição de diversos medicamentos. Assim, os mesmos representam um importante produto para as indústrias de perfumaria, cosmética, alimentícia e farmacêutica (Trancoso, 2013).

De acordo com Santos (2011), nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas, tendo como principal foco a busca por substâncias alternativas para o controle de organismos resistentes a antimicrobianos e o interesse em reduzir doenças e danos econômicos causados por patógenos.

Neste sentido, sabe-se que as plantas medicinais têm grande importância não somente como matéria prima para o desenvolvimento de novos remédios, mas também como modelos para compostos farmacologicamente ativos que são eficientes no controle do crescimento de uma ampla variedade de microrganismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias (Duarte, 2006).

A resistência bacteriana aos antimicrobianos é atualmente um dos problemas de saúde pública mais relevante a nível global, dado que apresenta consequências clínicas e econômicas preocupantes, estando associada ao uso inadequado de antimicrobianos (Loureiro et al., 2016; Silva e Neufeld, 2006). De acordo com Lima et al. (2015), dentre as bactérias Gram-positivas, *Staphylococcus aureus* é considerada a mais virulenta do seu gênero. Sua enorme capacidade de adaptação e resistência à

maioria dos antimicrobianos colocou-a atualmente entre as espécies de maior importância nas infecções nosocomiais. Este patógeno é um dos causadores de infecções humanas mais comuns, sendo responsável pela ocorrência de abscessos em vários órgãos, endocardite, gastroenterites (intoxicação alimentar) e síndrome do choque tóxico, pneumonia hospitalar, infecções de feridas cirúrgicas e sepse (Levinson e Jawetz, 2005). Outro microrganismo amplamente estudado no que diz respeito a resistências a antimicrobianos trata-se da *Escherichia coli*, uma bactéria Gram-negativa, a qual é motivo de doenças que tem amplo aspecto clínico, sendo a causa mais comum das infecções no trato urinário e de sepse. É um dos agentes principais da meningite neonatal e o patógeno mais frequentemente associado com a diarreia aquosa (Bellaver e Zancanaro, 2014; Levinson e Jawetz, 2005). Frente a isto, vê-se a importância de verificar a efetividade de espécies de plantas utilizadas na medicina popular para o combate de infecções e outras patologias, causadas por microrganismos, e também do estudo das mesmas para o desenvolvimento de novos medicamentos.

Cymbopogon citratus (D. C.) Stapf. é uma planta conhecida popularmente pelos nomes erva-cidreira, capim-santo, capim-limão, capim-cidreira entre outros (Silva et al., 2016). A espécie é originária da Índia e encontra-se difundida em vários países e aclimatada nas regiões tropicais do Brasil (Santos et al., 2009). É uma erva perene pertencente à família Poaceae, sua estrutura é formada por touceiras compactadas e robustas, com rizomas semisubcultâneo, suas folhas são longas, aromáticas, estreitas, agudas e ásperas, apresentando nervura central proeminente (Lima et al., 2016; Silva et al., 2014).

O óleo essencial do *C. citratus* possui forte odor de limão, sua composição química apresenta o citral e o mircenol como compostos majoritários (Silva et al., 2016). Outros aldeídos, por exemplo, o citronelal, isovaleraldeído e decilaldeído, também podem ser encontrados, além de cetonas e álcoois, como geraniol, nerol, metil heptenol e farnesol 4-7 (Guimarães et al., 2008; Lawal et al., 2017).

Além do uso popular bastante reconhecido, para distúrbios nervosos e estomacais, o capim-santo tem emprego industrial vasto. As folhas desidratadas são

utilizadas, principalmente, pela indústria alimentícia para o fabrico de chás (Gomes e Negrelle, 2015). Seu óleo é amplamente utilizado para fins medicinais e seu uso tem aplicações nas indústrias farmacêuticas, alimentícias, de cosméticos e perfumaria (Pinto et al., 2014; Gomes e Negrelle, 2015) além de apresentar utilização tradicional como bactericida, analgésico e calmante (Duarte, 2006), tendo atividades anti-inflamatórias, antifúngicas, sedativas, antibacterianas, antivirais e anticarcinogênicas (Lawal et al., 2017).

De acordo com Santos et al. (2009), *C. citratus* é uma planta que apresenta atividade farmacológica para distúrbios, tais como insônia, nervosismo, má-digestão entre outros problemas causados por microrganismos. Assim, sua composição química amplamente estudada pode servir como matéria prima para o desenvolvimento de antimicrobianos contra agentes patogênicos.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial (OE) proveniente das folhas de *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, além de verificar a possibilidade de sinergismo e/ou antagonismo do OE quando combinado com os antimicrobianos vancomicina e cloranfenicol.

METODOLOGIA

A planta utilizada neste estudo, *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf., foi coletada no terreno da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Campus X, situado no município de Teixeira de Freitas-BA. O espécime foi identificado no Herbário RBR do Departamento de Botânica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). A exsicata se encontra depositada na coleção do Laboratório de Microbiologia do Campus X da Universidade do Estado da Bahia (UNEB). A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Microbiologia, Campus X da UNEB, onde foi analisada a atividade antimicrobiana do óleo essencial (OE) da folha do capim-santo sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Para os Testes de Sensibilidade Antimicrobiana (TSA), foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus* INCQS 00005 (ATCC 14458) e cepas de *Escherichia coli* INCQS 00031 (ATCC 10536) que foram doadas pela Coleção de Microrganismos de Referência em Vigilância

Sanitária (CMRVS) do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), no Rio de Janeiro-RJ. As cepas foram ativadas e mantidas no Laboratório de Microbiologia do *Campus X* da UNEB.

O OE foi obtido a partir das folhas previamente secas do capim-santo, que foram separadas e lavadas em solução de hipoclorito de sódio (teor de cloro ativo 2,0-2,5%) numa concentração de cinco gotas para cada 1.000 mL de água por 15 min. Logo após, as folhas foram colocadas sobre papel toalha para a secagem por 30 min e, em seguida, colocadas em estufa com circulação de ar a 45°C para a secagem em calor seco, onde permaneceram por um período de 24 h. Ao final da secagem as folhas foram cortadas em pedaços pequenos com a utilização de tesoura.

Para a extração do OE, foi empregada a metodologia de extração por arraste a vapor utilizando um Clevenger de acordo com Santos et al. (2004). Foram utilizados 40 g de folhas secas picadas do capim-santo, pesados em uma balança de precisão, em 400 mL de água destilada (proporção de p/v=1:10). Todo material foi colocado em um balão volumétrico com capacidade de 1.000 mL. O balão foi acoplado ao Clevenger e a uma manta aquecedora, onde a extração foi realizada com temperatura controlada a 100°C por um período máximo de duas horas. Ao término da extração, separou-se o hidrolato do OE extraído, que foi estocado em temperatura ambiente, em frascos de vidro com tampa e envoltos por papel alumínio.

O rendimento foi calculado para a relação volume do óleo, medida a partir do volume de óleo obtido no sistema de extração, dividido pela massa seca da amostra da planta. O rendimento de óleo obtido de cada amostra foi então calculado pela fórmula $R\% = (VOE / MAS) \times 100$, onde R% = Rendimento do Óleo Essencial em Porcentagem; VOE = Volume do Óleo Essencial em mililitros (mL); e MSA = Massa Seca da Amostra da Planta em gramas (g)

O TSA foi avaliado pela técnica de difusão de discos em meio de cultura sólido (Bauer et al., 1966; Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015). Após o processo da extração do OE foi feita a distribuição e a identificação de quatro microtubos (tipo Eppendorf),

com diferentes concentrações do óleo: 1,0 (100%); 0,5 (50%); 0,25 (25%) e 0,125 (12,5%), e um com solução salina 0,9%, para ser utilizado como controle negativo. As diferentes concentrações do OE foram obtidas através da diluição com *Tween 80*, tendo um volume final de 150 µL do OE das folhas em cada tubo.

As bactérias utilizadas para o TSA foram cultivadas em tubos de ensaio contendo Ágar Nutriente (AN) e incubados em estufa a 37°C / 18 h. A partir do crescimento das colônias nos tubos de ensaio, foi feita uma suspensão bacteriana em Solução Salina a 0,9%, fazendo comparação à escala MacFarland de 0,5 que corresponde a aproximadamente 10⁸ Unidades Formadoras de Colônia por mililitro (UFC/mL) (Trajano et al., 2009).

Em placas de Petri contendo Ágar Muller Hinton (AMH), foi realizado o processo de semeadura da suspensão bacteriana com auxílio de um suabe. Os discos de papel em branco esterilizados de 6,0 mm de diâmetro ficaram embebidos no OE extraído das folhas da planta em diferentes concentrações (1,0; 0,5; 0,25; 0,125), pelo período de 24 h em temperatura ambiente, foram colocados sobre o meio de cultura da placa de Petri, com o auxílio de uma pinça esterilizada, logo após a inoculação das bactérias. As placas foram armazenadas a 37°C / 24 h.

Os potenciais antimicrobianos do OE em diferentes concentrações foram avaliados pela medição do diâmetro dos halos de inibição em milímetro utilizando um halômetro. Foram utilizados discos de vancomicina (30µg) para *S. aureus* e cloranfenicol (30µg) para *E. coli* para o controle positivo e discos branco embebidos com solução salina 0,9% para controle negativo. Os testes foram realizados em triplicata.

Em diferentes placas de Petri foram semeadas as bactérias *S. aureus* e *E. coli*, para que fosse realizado o teste de sinergismo e/ou antagonismo. A partir de duas diferentes placas de Petri com AMH foram semeadas uma placa com *S. aureus* e uma placa com *E. coli*. Após a semeadura dos microrganismos depositou-se um disco embebido com OE de capim-santo, com a concentração 100%, em cada uma das duas placas (uma com *S. aureus* e outra com *E. coli*). Na placa com semeadura de *S. aureus* foi colocado um disco de vancomicina, distante cerca de 2,0 cm do disco com o OE; e na placa com semeadura de *E. coli* foi colocado

um disco de cloranfenicol, ambos para a realização do teste de sinergismo e/ou antagonismo.

Neste estudo, foi realizado o teste ANOVA (“Analysis of Variance”), também conhecido como F-teste, utilizando o programa *BioEstat*[®] 5.3, realizado com dois diferentes fatores: concentrações (100%; 50%; 25% e 12,5%) e microrganismos (*E. coli* e *S. aureus*). Utilizou-se também o teste de Tukey para verificar se houve diferença significativa ($p < 0,001$) entre os valores das médias dos halos encontrados em relação as concentrações (100%; 50%; 25% e 12,5%) e os microrganismos testados (*E. coli* e *S. aureus*) (Ayres et al., 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do processo de extração do óleo e fazendo uso do cálculo de rendimento (volume do óleo essencial extraído (0,3 mL) dividido pela massa seca (80 g) da amostra da planta utilizada) obteve-se o rendimento do óleo essencial das folhas de capim-santo que foi igual a 0,375%.

O OE extraído da folha de capim-santo apresentou atividade antimicrobiana frente à *S. aureus* e *E. coli*, sendo que foi possível identificar uma maior eficácia do OE quando testado frente ao *S. aureus*, uma vez que houve formação de halo com diâmetro significativo em todas as concentrações e o disco embebido com o óleo na concentração 100% apresentou halo de tamanho superior ao do antimicrobiano industrializado.

Já frente a *E. coli* ocorreu inibição apenas nas três maiores concentrações. Contudo, ainda que tenha ocorrido diferenciação na atividade antimicrobiana entre *S. aureus* e *E. coli*, houve resposta em ambos os testes, comprovando a potencialidade fitoterápica da

planta. Os discos que foram utilizados para o controle positivo (vancomicina para *S. aureus* e cloranfenicol para *E. coli*) apresentaram os resultados esperados conforme os dados do fabricante e os discos que foram utilizados para o controle negativo (solução salina) não apresentaram atividade de inibição contra as bactérias em questão (Tabela 1).

Segundo Silva et al. (2014) os testes realizados em seus estudos sobre a atividade antimicrobiana do OE de *Cymbopogon citratus*, permitiram afirmar que o OE do capim-santo possui atividade antimicrobiana frente a *S. aureus* e *E. coli*, microrganismos utilizados no presente estudo, além da *Pseudomonas aeruginosa*. Neste mesmo estudo, os autores afirmam ainda que o óleo apresentou uma concentração inibitória mínima maior que o controle positivo. Fato semelhante ocorreu na presente pesquisa, já que a concentração de 100% do OE apresentou um halo de inibição, frente a *S. aureus*, maior que o halo do controle positivo.

Salienta-se que por causa da formação de halo expressiva do OE frente a *S. aureus* ocorreu uma dificuldade para realizar a leitura das placas dos discos embebidos na concentração 50% onde houve a necessidade de realizar uma repetição da triplicata apenas com a concentração em questão, ressaltando ainda que o óleo e o ágar utilizados foram os mesmos manipulados no teste anterior e seguiu-se a risca todo o protocolo do teste. Contudo, houve diferenciação no resultado da média dos halos, onde o OE na concentração 25% formou um halo maior do que o óleo na concentração 50%. Este efeito pode ter ocorrido, provavelmente, devido ao efeito de sinergismo das diferentes concentrações do OE que estavam sendo testadas nas mesmas placas (triplicata).

Tabela 1. Resultado das Médias (\bar{X}) e Desvio Padrão (DP) dos diâmetros (milímetros) dos halos de sensibilidade dos discos antimicrobianos embebidos com óleo essencial extraído da folha de capim-santo em diferentes concentrações, realizados em triplicata.

Concentração do Óleo Essencial	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>			
	Diâmetro dos Halos (Triplicata)				Diâmetro dos Halos (Triplicata)			
	1	2	3	$\bar{x} \pm DP$	1	2	3	$\bar{X} \pm DP$
100%	40	38	30	36,0 ^a ± 5,29	18	15	18	17,0 ^b ± 1,73
50%	17	19	16	17,3 ^b ± 1,53	15	15	17	15,7 ^b ± 1,15
25%	28	20	24	24,0 ^c ± 4,00	10	10	10	10,0 ^d ± 0,00
12,5%	14	18	14	15,3 ^b ± 2,31	8	8	5	7,0 ^d ± 1,73
Controle (+)	30	28	26	28,0 ± 2,00	40	38	40	39,3 ± 1,15
Controle (-)	0	0	0	0,0 ± 0,00	0	0	0	0,0 ± 0,00

a, b, c, d = letras iguais, médias semelhantes pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Utilizando-se o F-teste (ANOVA) observou-se que em relação a atividade antimicrobiana do óleo essencial houve diferença significativa ($p < 0,0001$) entre os microrganismos testados (*S. aureus* e *E. coli*) nas diferentes concentrações (100%, 50%, 25% e 12,5%) utilizadas, pois o valor de F calculado ($F_{\text{calc.}}=32,46$), para estes tratamentos nos níveis de significância 1,0% (0,01) e 5,0% (0,05) foi maior que os respectivos valores de F tabelado ($F_{\text{tab.}}=4,026$ a 1% e $F_{\text{tab.}}=2,657$ a 5%).

Em estudos realizados por Furtado et al. (2015) a infusão e o decocto de folhas secas, não apresentaram atividade antimicrobiana frente aos microrganismos testados, *S. aureus* e *E. coli*, divergindo dos resultados aqui apresentados, contudo vale ressaltar que o potencial antimicrobiano exposto neste trabalho, foi testado a partir do OE da planta e não por meio de infusão ou decocto.

A partir do teste de sinergismo e/ou antagonismo realizado, foi possível verificar que o OE na concentração de 100% quando combinado com os antimicrobianos vancomicina (*S. aureus*) e cloranfenicol (*E. coli*), não possuiu atividade sinérgica e nem antagônica, pois os halos apresentados foram semelhantes aos diâmetros encontrados nas análises anteriores de sensibilidade antimicrobiana.

O OE da planta *C. citratus*, tem em sua composição alguns componentes que tem efetividade contra microrganismos, dentre esses estão presentes em uma quantidade notória o geranial (38,43%) e o neral (31,12%), que juntos formam uma mistura, o citral, principal responsável por atividade antimicrobiana, o que pode explicar a ação antibacteriana significativa frente aos microrganismos aqui testados (Valeriano et al., 2012).

CONCLUSÃO

No presente trabalho foi possível corroborar o potencial antimicrobiano do OE das folhas secas do capim santo (*Cymbopogon citratus*) frente a *S. aureus* e *E. coli*. O OE apresentou potencial de inibição de *S. aureus* superior ao verificado para o antimicrobiano sintético vancomicina. Contudo, faz-se necessário a continuidade do estudo visando analisar outros aspectos que tenham influência na potencialidade do OE, como os compostos que são extraídos com o solvente e o método de extração utilizados.

REFERÊNCIAS

- AYRES, M. & AYRES JUNIOR, M., Ayres, D.L. & Santos, A.A.S., 2007. *BioEstat 5.3 – aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas*. Belém: Instituto Mamirauá. 364 p.
- BAUER, A.W., KIRBY, W.M., SHERRIS, J.C. & TURCK, M., 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 45, no. 4, pp. 493-496. http://dx.doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493. PMID:5325707.
- BELLAVER, E.H. & ZANCANARO, V., 2014 [acesso em setembro 2020]. Incidência de infecção urinária causadas pela *Escherichia coli* em um determinado laboratório de análises clínicas do município de Caçador-SC. *Revista Interdisciplinar de Estudos em Saúde* [online], vol. 3, no. 1, pp. 85-92. Disponível em: <https://periodicos.uniarp.edu.br/index.php/ries/article/view/182/0>
- BIZZO, H.R., HOVELL, A.M.C. & REZENDE, C.M., 2009. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Química Nova*, vol. 32, no. 3, pp. 588-594. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000300005>.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE – CLSI, 2015. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI Document M100-S25*. Wayne: CLSI. 25th ed. Informational Supplement.
- COLUSSI, T.C., DALMOLIN, L.F., PACHTMANN, M. & FREITAS, G.B.L., 2011 [acesso em setembro 2020]. *Melissa officinalis* L.: características gerais e biossíntese dos principais metabólitos secundários. *Biofar: Revista de Biologia e Farmácia* [online], vol. 5, pp. 89-100. Disponível em: <https://docplayer.com.br/12808574-Melissa-officinalis-l-caracteristicas-gerais-e-biossintese-dos-principais-metabolitos-secundarios.html>
- DUARTE, M.C.T., 2006 [acesso em setembro 2020]. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. *Multiciência (ASSER)* [online], no. 7, pp. 1-16. Disponível em: <http://www.ccs.ufpb.br/nephf/contents/documentos/artigos/fitoterapia/atividade-antimicrobiana-de-plantas/@@download/file/Atividade%20Antimicrobiana%20de%20Plantas.pdf>

- FURTADO, J.M., AMORIM, A.S., FERNANDES, M.V.M. & OLIVEIRA, M.A.S., 2015. Atividade Antimicrobiana do extrato aquoso de *Eucalyptus globulus*, *Justicia pectoralis* e *Cymbopogon citratus* frente a bactérias de interesse. *UNOPAR. Ciências Biológicas e da Saúde*, vol. 17, no. 4, pp. 233-237. <http://dx.doi.org/10.17921/2447-8938.2015v17n4p%25p>.
- GOMES, E.C. & NEGRELLE, R.R.B., 2015. Análise de cadeia produtiva do capim limão: estudo de caso. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, vol. 17, no. 2, pp. 201-209. http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/10_077.
- GUIMARÃES, L.G.L., CARDOSO, M.G., ZACARONI, L.M., LIMA, R.K., PIMENTEL, F.A. & MORAIS, A.R., 2008. Influência da luz e da temperatura sobre a oxidação do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon Citratus* (D.C.) Stapf). *Química Nova*, vol. 31, no. 6, pp. 1476-1480. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000600037>.
- LAWAL, O.A., OGUNDAJO, A.L., AVOSEH, N.O. & OGUNWANDE, I.A., 2017. *Cymbopogon citratus*. In: KUETE, V. *Medicinal spices and vegetables from Africa*. Cambridge: Academic Press, Cap. 18, pp. 397-423. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6.00018-2>.
- LEVINSON, W. & JAWETZ, E., 2005. *Microbiologia médica e imunologia*. 7. ed. Porto Alegre: Artmed. 451 p.
- LIMA, A.E.F., CASTRO, E.A., FERREIRA, D.A., ABREU, C.M.W.S., COELHO, E.L., COELHO, L.E. & TEIXEIRA, D.M.A., 2016 [acesso em setembro 2020]. Rendimento, caracterização química e atividade antibacteriana do óleo essencial de capim limão coletado em diferentes horários. *Magistra* [online], vol. 28, pp. 369-378. Disponível em: <https://magistraonline.ufrb.edu.br/index.php/magistra/article/view/275>
- LIMA, M.F.P., BORGES, M.A., PARENTE, R.S., VICTORIA JUNIOR, R.C. & OLIVEIRA, M.E., 2015 [acesso em setembro 2020]. *Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares – revisão de literatura. *Revista UNINGÁ Review* [online], vol. 21, pp. 32-39. Disponível em: <http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1616>
- LOUREIRO, R.J., ROQUE, F., TEIXEIRA RODRIGUES, A., HERDEIRO, M.T. & RAMALHEIRA, E., 2016. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. *Revista Portuguesa de Saude Publica*, vol. 34, no. 1, pp. 77-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rpsp.2015.11.003>.
- MENGAI, B., 2010. *Efeitos dos óleos essenciais de diferentes espécies de Eucalyptus sobre a microflora do milho em pós-colheita*. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. 113 p. Dissertação de Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos. <http://dx.doi.org/10.11606/D.11.2010.tde-02082010-160327>.
- PEREIRA, A.A., 2006. *Efeito inibitório dos óleos essenciais sobre o crescimento de bactérias e fungos*. Lavras: Universidade Federal de Lavras. 58 p. Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos.
- PINTO, D.A., MANTOVANI, E.C., MELO, E.C., SEDIYAMA, G.C. & VIEIRA, G.H.S., 2014. Produtividade e qualidade do óleo essencial de capim-limão, *Cymbopogon citratus*, DC., submetido a diferentes lâminas de irrigação. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, vol. 16, no. 1, pp. 54-61. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722014000100008>.
- PROBST, I.S., 2012. *Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico*. Botucatu: Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. 102 p. Dissertação de Mestrado em Biologia Geral e Aplicada.
- SANTOS, A., PADUAN, R.H., GAZIN, Z.C., JACOMASSI, E., D' OLIVEIRA, P.S., CORTEZ, D.A.G. & CORTEZ, L.E.R., 2009. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol. 19, no. 2a, pp. 436-441. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000300017>.
- SANTOS, A.S., ALVES, S.M., FIGUEIRÊDO, F.J.C. & ROCHA NETO, O.G., 2004. *Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado Técnico, no. 99.
- SANTOS, F.O., 2011. *Atividades biológicas de Anacardium occidentale (Linn)*. Patos: Universidade Federal de Campina Grande. 57 p. Dissertação de Mestrado em Zootecnia.

- SIANI, A.C., SAMPAIO, A.L.F., SOUSA, M.C., HENRIQUES, M.G.M.O. & RAMOS, M.F.S., 2000. Óleos essenciais. *Revista de Biotecnologia. Ciência e Desenvolvimento.*, vol. 3, no. 16, pp. 38-43.
- SILVA, C.H.P.M. & NEUFELD, P.M., 2006. *Bacteriologia e micologia para o laboratório clínico*. São Paulo: Revinter. 512 p.
- SILVA, F.L., SUGAUARA, E.Y.Y., MAGALHÃES, H.M., PASCOTTO, C.R., COLAUTO, N.B., LINDE, G.A. & GAZIM, Z.C., 2014. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia*, vol. 17, no. 3, pp. 181-184. <https://www.revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/view/4942>
- SILVA, L.P., RECK, R.T. & FONSECA, F.N., 2016. Desenvolvimento de formas farmacêuticas semissólidas a partir de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). *Saúde e Meio Ambiente - Revista Interdisciplinar*, vol. 5, pp. 82. <https://doi.org/10.24302/sma.v5i2.1069>
- TRAJANO, V.N., LIMA, E.O., SOUZA, E.L. & TRAVASSOS, A.E.R., 2009. Propriedades antibacterianas de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. *Food Science and Technology (Campinas)*, vol. 29, no. 3, pp. 542-545. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612009000300014>.
- TRANCOSO, M.D., 2013 [acesso em 2020 setembro 2020]. Projeto óleos essenciais: extração, importância e aplicações no cotidiano. *Revista PRÁXIS* [online], no. 9. pp. 89-96. Disponível em: <http://web.unifoa.edu.br/praxis/numeros/09/89-96.pdf>
- VALERIANO, C., PICCOLI, R.H., CARDOSO, M.G. & ALVES, E., 2012. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, vol. 14, no. 1, pp. 57-67. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722012000100009>.
- VILAÇA, A.C., BERNADES, E.A. & MELO, V.Q., 2005. Extração de óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*. *FAZU em Revista*, no. 2, pp. 107-117.