

Avaliação da atividade antibacteriana do extrato etanólico de folhas e cascas de *Eucalyptus globulus* Labill. frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*

Evaluation of the antibacterial activity of the ethanol extract of Eucalyptus globulus Labill. leaves and bark against Escherichia coli and Staphylococcus aureus

Débora Marroni de Miranda; Marina Pereira Rocha*

Centro Universitário UNA, Belo Horizonte, MG.

***Autor correspondente:** Marina Pereira Rocha. ORCID 0000-0002-8895-8920. Centro Universitário UNA, Campus Guajajaras, Rua dos Guajajaras. 175 – Centro, Belo Horizonte – MG, 30180-100 – Brasil. E-mail: marina.pereira@prof.una.br. Sistema Único de Saúde de Ouro Preto e Mariana.

Data de Submissão: 25/10/2021; Data do Aceite: 02/02/2022.

Citar: Miranda, D M; Rocha M P. Avaliação da atividade antibacteriana do extrato etanólico de folhas e cascas de *Eucalyptus globulus* Labill. frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, v.4, n.1, p. 27-38, 2022. DOI: <https://doi.org/10.29327/226760.4.1-3>

RESUMO

A resistência bacteriana aos antimicrobianos disponíveis tem se tornado um grave problema de saúde pública em todo o mundo, pois além da dificuldade no tratamento das doenças infecciosas, representa um grande ônus para o sistema público de saúde. O presente estudo visa avaliar a atividade antibacteriana dos extratos de folhas e cascas de *Eucalyptus globulus* Labill. frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Os extratos das folhas e cascas foram produzidos por maceração dinâmica com banho de ultrassom. A análise da atividade antibacteriana dos extratos foi realizada pelo método de disco difusão em Ágar Mueller-Hinton. Os resultados encontrados na análise dos dados do extrato etanólico demonstraram que *Eucalyptus globulus* apresenta atividade antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, na concentração de 10 mg/mL, com diâmetros de halos de inibição de 10 mm e 9 mm, para folhas e cascas, respectivamente. Na análise dos dados para *Escherichia coli*, apenas o extrato etanólico das cascas de 10 mg/mL apresentou atividade antibacteriana, com halo de inibição de 18 mm. Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram o potencial antimicrobiano dos extratos de folhas e cascas de *Eucalyptus globulus* e ampliam o espectro de ação biológica da espécie. Adicionalmente, contribuiu para o desenvolvimento de pesquisas futuras com o *Eucalyptus globulus*, como investigação detalhada da composição química e determinação da concentração inibitória mínima, visando investigar a ação antimicrobiana da espécie. Além disso, esse estudo contribui com a valorização de espécies vegetais da biodiversidade mineira.

Palavras-chave: *Eucalyptus globulus* Labill; *Eucalipto*; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; *Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-Difusão*.

ABSTRACT

Bacterial resistance to available antimicrobials has become a serious public health problem worldwide, as in addition to the difficulty in treating infectious diseases, it represents a great burden for the public health system. The present study aimed to evaluate an antibacterial activity of extracts from leaves and bark of *Eucalyptus globulus* Labill. against *Escherichia*

coli and *Staphylococcus aureus*. The extracts of leaves and bark were obtained by dynamic maceration with an ultrasound bath. The analysis of the antibacterial activity of the extracts was performed using the disk diffusion method in Mueller-Hinton Agar. The results found in the analysis of the ethanol extract data showed that *Eucalyptus globulus* has antibacterial activity on *Staphylococcus aureus*, at a concentration of 10 mg/mL, with diameters of inhibition halos of 10 mm and 9 mm, for leaves and bark, respectively. In the analysis of data for *Escherichia coli*, only the ethanol extract of the 10 mg/mL bark has antibacterial activity, with an inhibition halo of 18 mm. The results demonstrated the antimicrobial potential of *Eucalyptus globulus* leaf and bark extracts and broaden the species' biological action spectrum, in addition to contributing to the development of future research with *Eucalyptus globulus*, such as detailed investigation of the chemical composition and determination of minimum inhibitory concentration aiming to investigate the antimicrobial action of the species. In addition, this study contributes to the appreciation of plant species from Minas Gerais biodiversity.

Keywords: *Eucalyptus globulus* Labill; *Eucalyptus*; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; Disk Diffusion Antimicrobial Tests.

INTRODUÇÃO

O surgimento e a disseminação de patógenos que adquiriram novos mecanismos de resistência a medicamentos (RAM) já existentes ameaçam a capacidade de tratar infecções comuns e, conseqüentemente, a saúde da sociedade global. A RAM ocorre naturalmente ao longo do tempo, geralmente por meio de alterações genéticas, sendo que esses organismos resistentes a antimicrobianos são encontrados em pessoas, animais, alimentos, plantas e no meio ambiente (na água, solo e ar). Os principais motivadores da resistência antimicrobiana incluem o uso incorreto e excessivo de antimicrobianos; falta de acesso a água potável, saneamento e higiene; prevenção e controle precários de infecções e doenças em estabelecimentos de saúde e áreas rurais; falta de consciência e conhecimento e falta de aplicação da legislação (WHO, 2020).

É notório que a resistência bacteriana é um problema de saúde pública atual. No entanto, estudos apontam que esse fenômeno pode se intensificar devido à pandemia de COVID-19, o que acarreta preocupações. Este fato está associado ao uso de antimicrobianos que têm sido utilizados

tanto com objetivo profilático à COVID-19 quanto para tratar coinfeções bacterianas, comuns em pacientes com infecções virais, podendo, assim, acarretar o desenvolvimento de resistência aos medicamentos antimicrobianos disponíveis, devido ao uso indevido desses medicamentos (SCHUELER, 2020). Além disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima que em torno de 700 mil pessoas morrem anualmente devido a doenças resistentes a medicamentos antimicrobianos, e um alerta emitido em 2019 indica que o número de mortes pode chegar a 10 milhões anualmente até 2050, de acordo com o cenário global atual (OMS, 2019).

Diante disso, é indispensável a busca por novas alternativas no tratamento antibacteriano, sendo que os produtos naturais são considerados uma fonte promissora na descoberta de novas substâncias bioativas, cuja a contribuição no arsenal terapêutico é evidenciada há milhares de anos. Ainda, as substâncias que podem ser obtidas por fontes naturais são alternativas inovadoras, devido à grande biodiversidade brasileira e mundial e ao uso etnofarmacológico relacionado ao uso de espécies vegetais medicinais (GUIMARÃES *et al.*, 2010)

O *Eucalyptus globulus* Labill., popularmente conhecido como Eucalipto, é uma planta de grande interesse industrial e medicinal, devido à sua facilidade de adaptação nas regiões de plantio e aos inúmeros usos e produtos gerados (EMBRAPA, 2019). As folhas e cascas do Eucalipto são utilizadas na medicina tradicional há milhares de anos com potencial para tratar úlceras, doença de Chagas, dermatites e problemas respiratórios (FURTADO *et al.*, 2015). Além disso, estudos já demonstraram que o Eucalipto possui atividade bactericida devido aos princípios ativos encontrados nas cascas e folhas dos Eucaliptos, como: alcaloides, fenólicos, taninos, mucilagens (GOMES *et al.*, 2019). No entanto, os estudos avaliando os extratos de diferentes partes da planta, como as cascas, ainda são incipientes.

Neste contexto, o presente estudo visa avaliar a atividade antibacteriana do extrato etanólico de folhas e cascas do Eucalipto frente à *E. coli* e *S. aureus* pelo método de disco-difusão, visando corroborar o seu uso tradicional e contribuir com estudos que podem subsidiar a descoberta e desenvolvimento de novos fármacos antibacterianos de origem natural.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e processamento do material vegetal

O material vegetal de folhas e cascas de *Eucalyptus globulus* Labill. foi coletado em local de plantação, sem agrotóxicos, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais – Brasil, de coordenadas: 19°50'27"S / 44°01'02"W / altitude em relação ao nível do mar: 894 metros. Ambos os materiais vegetais foram identificados e herborizados no Centro Universitário Una pela botânica Érica Fernanda Borsali e foi realizado o depósito de exsicata. Tanto as cascas quanto as folhas foram selecionadas fenotipicamente e secas em estufa, com circulação de ar a 60 °C até a secura completa do material vegetal. Posteriormente, os materiais vegetais foram

pulverizados em moinhos de facas e obteve-se 50,06 g de cascas e 44,54 g de folhas pulverizadas.

Preparo do extrato etanólico de folhas e cascas

O procedimento extrativo foi realizado segundo Ribeiro e colaboradores (2009) com adaptações. Em béquer de 500 mL foram colocados 44,54 g de folhas secas e pulverizadas e 100 mL de álcool etílico Drako® a 96° GL, até cobrir o material vegetal por inteiro. O mesmo foi realizado para as cascas com 50,06 g de material vegetal seco e pulverizado de Eucalipto e 300 mL de álcool etílico Drako® a 96° GL. As duas soluções foram levadas ao banho de ultrassom Unique Max Clean 1400® para que pudesse ser extraído pelo método de maceração dinâmica, por 10 minutos. O extrato foi filtrado em filtro de papel. Os dois procedimentos, tanto o banho de ultrassom quanto a filtragem, foram repetidos, totalizando três extrações. Os derivados vegetais obtidos foram reunidos e concentrados em chapa aquecedora Solab SL-141/A® até 60°C, até que o solvente fosse evaporado, obtendo-se os extratos secos com os seguintes rendimentos: 5,5% para folhas, e 20,31% para as cascas.

Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos etanólicos pelo método de disco-difusão

A pesquisa da potencial atividade antibacteriana dos extratos etanólicos de *Eucalyptus globulus* Labill. foi avaliada pelo método de disco-difusão em ágar utilizando discos de 6 mm, impregnados com 20 µL dos extratos etanólicos de folhas e cascas na concentração de 1 e 10 mg/mL, que foram avaliados como inibidores do crescimento das espécies padrões de *Escherichia coli* ATCC 11775 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Preparo da suspensão bacteriana

Seguindo a metodologia do Clinical & Laboratory Standards Institute (2013) a suspensão bacteriana

usada para o antibiograma corresponde a 0,5 da escala de McFarland, que propõe aproximadamente $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC) /mL. Foi realizado um tubo padrão obtido com 99,45 mL de solução de cloreto de bário, Dinâmica Química Contemporânea Ltda., e 0,55 mL de ácido sulfúrico a 1%, Neon®. Para o preparo da suspensão bacteriana, foi utilizado tubo de ensaio com salina estéril a 0,9% e o inóculo dos micro-organismos cultivados em placa de petri. Portanto, para obtenção da suspensão os micro-organismos cultivados foram inoculados com o auxílio da alça até turvação equivalente com 0,5 da escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL), anteriormente preparado. Os tubos foram agitados e foi feita a comparação visual da turvação ocasionada pelas bactérias. Uma vez padronizada, a suspensão foi utilizada para a inoculação na placa, conforme descrito por Silva, Nunan e Rocha (2019).

Inoculação das placas de teste

Para inoculação das amostras na placa teste, utilizou-se um *swab* embebido com as suspensões bacterianas de *S. aureus* e *E. coli* padronizadas na concentração 0,5 da escala de McFarland para semeadura dos micro-organismos em toda a superfície da placa de Petri, para que a distribuição do inóculo fosse uniforme. Após a semeadura, foi aguardado 10 minutos em temperatura ambiente para secagem da placa e absorção completa do inóculo antes de adicionar os discos (SILVA; NUNAN; ROCHA, 2019).

Técnica microbiológica: disco-difusão

Para o método de difusão em ágar foi utilizado o meio ágar Mueller Hinton Kasvi®, realizado segundo Clinical & Laboratory Standards Institute (2013), com adaptações de Silva, Nunan e Rocha (2019). Os dois extratos preparados (folhas e casca) foram pesados e ressuspensos em etanol, em suas concentrações (1 e 10 mg/mL). Os eppendorfs

foram levados ao banho de ultrassom para melhor dissolução. Cloranfenicol 30 µg/mL e etanol 96 °GL foram utilizados como controle positivo e negativo, respectivamente, após serem impregnados aos discos e serem posteriormente secos por evaporação. Todas as amostras foram incorporadas aos discos de 6 mm. As placas de Petri de 150 mm foram divididas em quatro quadrantes para estabelecer o lugar a serem colocados os discos.

Na mesma placa foram colocados dois discos referentes aos extratos etanólicos das folhas, em duas concentrações distintas, 1 mg/mL e 10 mg/mL, e dois discos com os extratos etanólicos das cascas em duas concentrações também, 1 mg/mL e 10 mg/mL, em duplicata. Ainda, foram colocados dois discos com o controle positivo (Cloranfenicol 30 µg) e dois discos com o controle negativo (etanol evaporado). Foram utilizados volumes iguais para todas as amostras (20 µL).

Após a semeadura, as placas foram invertidas e incubadas na estufa Solab® SL-101 a 37°C por 24h, para posterior leitura e interpretação dos resultados. A medida dos halos de inibição foi realizada com o auxílio de um paquímetro e os resultados foram avaliados estatisticamente e descritos como média e desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação da potencial atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos de folhas e cascas de *Eucalyptus globulus*, observou-se que para a bactéria *Escherichia coli* não houve inibição do crescimento microbiano nos seguintes extratos etanólicos e concentrações: folhas (1 mg/mL e 10 mg/mL) e cascas de 1 mg/mL. O extrato etanólico da casca (10 mg/mL) apresentou inibição do crescimento microbiano frente à *E. coli* com halo de inibição de 18 mm de diâmetro (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores de halos de inibição (mm) dos extratos etanólicos de folhas e cascas de *Eucalyptus globulus* Labill. nas concentrações de 1 mg/mL e 10 mg/mL frente à *Escherichia coli*.

	<i>Escherichia coli</i>							
	EXTRATOS ETANÓLICOS				CONTROLES			
	FOLHAS		CASCAS		POSITIVO (Cloranfenicol 30µg/mL)		NEGATIVO (Etanol)	
RÉPLICA	1 mg	10 mg	1 mg	10 mg	Disco 1	Disco 2	Disco 1	Disco 2
PLACA 1	SI	SI	SI	18 mm	SI	SI	SI	SI
PLACA 2	SI	SI	SI	18 mm	-	-	-	-
MÉDIA	0	0	0	18 mm	0		0	
DESVIO PADRÃO	0	0	0	0	0		0	

*SI – sem inibição

Observou-se que os discos impregnados com etanol (controle negativo) não apresentaram inibição do crescimento microbiano, comprovando que não interferiu na formação dos halos de inibição observados nos extratos. Porém, o controle positivo utilizado (Cloranfenicol 30 µg) não apresentou inibição do crescimento bacteriano, corroborando os achados de Franco *et al.* (2010), que obtiveram como resultado que as cepas de *E. coli* estudadas como *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC – B0125, C086, C0126 e C0128), *Escherichia coli* enteroinvasora (EIEC – A029) e *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC – 0157) eram resistentes ao Cloranfenicol. Ainda, Costa *et al.* (2006) isolaram 53 cepas de *E. coli* de suínos com diarreia, obtendo como resultado que 21 eram resistentes ao Cloranfenicol. O valor menos expressivo pode ser devido ao crescente aumento da resistência bacteriana entre as enterobactérias, visto que o estudo foi feito em 2006. Estes resultados estão de acordo com os achados neste experimento.

Além disso, um estudo realizado por Brito e Tagliari (2010) investigou a sensibilidade antimicrobiana

de *E. coli*, constatando que a mesma possuía alta resistência aos medicamentos estudados por eles, que incluem estreptomicina, sulfonamidas, tetraciclina e cloranfenicol. As bactérias Gram-negativas são intrinsecamente menos permeáveis a muitos antimicrobianos, pois sua membrana externa forma uma barreira de permeabilidade. A resistência de *E. coli* ao Cloranfenicol já foi descrita por Torres (2016) demonstrando a ocorrência por dois mecanismos principais: (1) Inativação enzimática mediada por acetilação que envolve a modificação no gene *cat*, que confere resistência de alto nível codificando a estrutura do Cloranfenicol e (2) Redução da permeabilidade da membrana sendo responsáveis os genes *florR* e *cmlA*.

Além disso, a cepa utilizada é uropatogênica (cepa referência para fazer antibiograma em pacientes com infecção urinária), que possui características que a torna mais patogênica para o sistema urinário e intrinsecamente resistentes ao cloranfenicol. *E. coli* uropatogênica causa infecção do trato urinário através do gene que codifica as fímbrias, que são apêndices filamentosos capazes de aderirem ao

trato urinário. Por ser um gene plasmidial, ele é instável e necessita de outros genes para estabilizá-lo e um desses genes é o de resistência ao Cloranfenicol (COSTA *et al.*, 2019).

Com relação ao efeito dos extratos etanólicos de folhas e cascas de *Eucalyptus globulus* frente à *Staphylococcus aureus*, não foi observada a inibição dos extratos de folhas e cascas na concentração de 1 mg/mL. No entanto, na concentração de 10 mg/mL apresentaram um diâmetro do halo de inibição médio de 10 mm e 9 mm, respectivamente, conforme demonstrado na Tabela 2. Para este micro-organismo, os controles positivos e negativos apresentaram inibição média de 24 mm e nenhuma inibição do crescimento bacteriano, respectivamente.

Tabela 2 – Valores de halos de inibição (mm) dos extratos etanólicos de folhas e cascas de *Eucalyptus globulus* Labill. nas concentrações de 1 mg/mL e 10 mg/mL frente à *Staphylococcus aureus*.

	<i>Staphylococcus aureus</i>							
	EXTRATOS ETANÓLICOS				CONTROLES			
	FOLHAS		CASCAS		POSITIVO (Cloranfenicol 30µg/mL)		NEGATIVO (Etanol)	
RÉPLICA	1 mg	10 mg	1 mg	10 mg	Disco 1	Disco 2	Disco 1	Disco 2
PLACA 1	SI	10 mm	SI	8 mm	24 mm	24 mm	SI	SI
PLACA 2	SI	10 mm	SI	10 mm	-	-	-	-
MÉDIA	0	10 mm	0	9 mm	24 mm		0	
DESVIO PADRÃO	0	0	0	1	0		0	

*SI – sem inibição

A avaliação do extrato etanólico de cascas de *Eucalyptus globulus* é descrita pela primeira vez neste trabalho. Kolayli e colaboradores (2009) realizaram um estudo do óleo essencial das cascas de Eucalipto, no entanto, sem concentração descrita, utilizando como metodologia a adição do óleo essencial diretamente ao Ágar Mueller-Hinton e dextrose de batata e não observada a inibição para *E. coli* e *S. aureus*. O mesmo estudo também analisou as principais classes químicas presentes no óleo essencial, como terpenos, hidrocarbonetos aromáticos, hidrocarbonetos alifáticos, aldeídos, álcoois, ácidos carbocílicos e outros ésteres. Os resultados de ausência de ação antimicrobiana no estudo de Kolayli e colaboradores (2009), em

comparação com o deste trabalho no qual foi observada inibição dos micro-organismos pode ser explicado pela forma extrativa utilizada, entre o óleo essencial e o extrato etanólico obtido, além da metodologia empregada para a avaliação da atividade antibacteriana. Nos óleos essenciais concentram-se moléculas majoritariamente apolares. Já no extrato etanólico, são extraídas moléculas tanto polares quanto apolares, de acordo com a polaridade do etanol. Sendo assim, podemos inferir que os extratos etanólicos de cascas possuem moléculas mais variadas, podendo explicar o motivo pela qual o extrato etanólico apresentou inibição e, o óleo essencial, não.

A atividade antibacteriana de diferentes extratos obtidos de folhas de *Eucalyptus globulus* já foram descritos, como no estudo de Furtado e colaboradores (2015), que na avaliação dos extratos aquosos de folhas de *Eucalyptus globulus* nas concentrações de 100, 50 e 25 mg/mL, pelo método de disco difusão, não observaram a inibição do crescimento bacteriano para *E. coli*, mas obtiveram 13 mm, 12 mm e 10 mm de inibição para *S. aureus* nas concentrações de 10, 50 e 25 mg/mL, respectivamente. Estes achados são compatíveis com os resultados obtidos neste trabalho para *S. aureus*, mas não para *E. coli*. A diferença de inibição relacionada à *E. coli* pode ser devida à característica química dos extratos obtidos no estudo de Furtado e colaboradores (2015), no qual foi utilizada a água, extraíndo substâncias mais polares. No presente estudo, foi utilizado o etanol, um solvente anfipático, que possui a capacidade de extrair substâncias polares e apolares, o que influencia diretamente nos compostos extraídos e, conseqüentemente, no resultado da atividade antibacteriana observada. Além disso, fatores como solo, altitude, índice pluviométrico, entre outros, também influenciam na quantidade de compostos presentes no material vegetal e, por conseqüência, na ação antibacteriana (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Navarro e colaboradores (1996) observaram que o extrato metanólico de folhas de *Eucalyptus globulus* apresentaram atividade com concentração inibitória mínima de 5 mg/mL e 10 mg/mL para *S. aureus* (ATCC 6538) e *E. coli* (ATCC 8937), respectivamente. Este dado corrobora o descrito para o extrato etanólico neste estudo. As ausências na atividade antibacteriana nos extratos aquosos de *Eucalyptus globulus* para *E. coli* e inibição apresentada pelos extratos etanólicos descritos neste trabalho e no extrato metanólico descrito por Navarro e colaboradores (1996) está relacionada com a

diferença da composição química dos extratos. Nos extratos aquosos de *Eucalyptus globulus* estão presentes substâncias mais polares que as dos extratos etanólicos e metanólicos.

O estudo de Khan e colaboradores (2009) foi realizado com o extrato etanólico bruto de folhas (0,1 g/L) de Eucalipto pelo método de disco difusão e foi evidenciada a inibição para *S. aureus* de 16 a 25 mm e sem inibição para *E. coli*. Os resultados para *S. aureus* são similares com os resultados deste experimento, entretanto, há discordâncias relacionadas à *E. coli*, podendo ser justificada pela diferença na cepa bacteriana utilizada. Khan *et al.* (2009) utilizaram *S. aureus* (ATCC 29213) e *E. coli* (ATCC 25922), sendo cepas diferentes das utilizadas neste estudo, *S. aureus* (ATCC 25923) e *E. coli* (ATCC 11775). Adicionalmente, fatores ambientais (solo, quantidade de sol, água, entre outros) interferem nos compostos extraídos, além da concentração investigada (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Em um outro estudo de Khan e colaboradores (2014), foram realizados testes com extratos de folhas de *Eucalyptus globulus* (10 mg/mL) obtidos das extrações com solventes de diferentes polaridades. Os resultados para *S. aureus* e *E. coli* foram, respectivamente, aquoso (23,8 mm e 20 mm), n-hexano (12,7 mm e 14,7 mm) e etanol (26,96 mm e 19,36 mm). Portanto, observamos que se obteve inibição para *E. coli*. Comparativamente, o extrato com melhor resultado proporcional foi o etanólico, que teve um halo de inibição para *E. coli* semelhante ao que obtivemos neste experimento. Em contrapartida, houve discordância nos halos de *S. aureus*, podendo ser justificado pela quantidade de compostos presentes no material vegetal que foi extraído tanto no presente experimento, quanto no de Khan e colaboradores (2014). Portanto, foi demonstrada a diferença de atividade antibacteriana dos extratos preparados com

solventes divergentes, que está relacionada com a composição química dos extratos obtidos.

A diferença na composição dos extratos de *Eucalyptus globulus* é relatada pelo Ministério da Saúde (2018), sendo descrito que o extrato das folhas (água/acetona 70%) possui a presença de ácido gálico, oenoteína, eucalbanina C, tetragaloilglucose, ácido elágico, eucaglobulina, quercetina rhaminosídeo, globulina e sideroxilona. O estudo de Díaz (2018) investigou os metabólitos secundários presentes no extrato etanólico de folhas de *Eucalyptus globulus* Labill., testando para aminoácidos e aminas, lactose, quinonas, triterpenos, açúcares redutores, catequinas, cumarinas, flavonoides, resinas, saponinas e taninos, todos em alta intensidade. Os extratos metanólicos e hidroalcoólico (metanol/água) das cascas de *Eucalyptus globulus* Labill. apresentam compostos majoritários como ácido gálico e derivados, catequina, ácido elágico e derivados e flavonoides glicosilados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018), taninos de alto peso molecular, compostos fenólicos, lignina, carotenoides e flavonoides (LUIS et al., 2016). Sendo que a diferença na composição química e extração desses compostos pode estar relacionada com suas atividades biológicas (BRAGATTO, 2010). No entanto, são necessárias mais investigações para elucidar toda a composição química dos extratos tanto das folhas quanto das cascas, e o teor de cada composto presente na amostra, para determinar a contribuição exata de cada componente para as atividades biológicas.

A utilização etnofarmacológica e comercial de *Eucalyptus globulus* se dá principalmente pela utilização de seu óleo essencial. Devido a este motivo, há mais estudos científicos publicados com a avaliação da atividade antibacteriana e análise da composição química do óleo essencial das folhas

de *Eucalyptus globulus*. Ait-Ouazzou e colaboradores (2011) observaram resultados positivos para atividade antimicrobiana pelo método de disco difusão, com halos de inibição em média de 14 mm para *S. aureus*. Esse resultado corrobora os dados obtidos no presente estudo, onde houve 10 mm em média de inibição para as folhas (10 mg/mL). Para *E. coli* não foram encontrados halos de inibição e essa divergência no tamanho dos halos pode ser justificada pela composição química presente no derivado vegetal avaliado. A diferença para a inibição neste estudo e para a falta de inibição no estudo de Ait-Ouazzou e colaboradores (2011) se deve ao fato de que foram utilizadas formas extrativas distintas, o que provavelmente poderá interferir nos resultados.

Em outro estudo realizado por Bachir e Benali (2012) foi demonstrado que o óleo essencial das folhas (13 µL) de *E. globulus* possui atividade antimicrobiana tanto contra bactérias Gram-negativas (*E. coli*) quanto Gram-positivas (*S. aureus*), utilizando os métodos de difusão em ágar e diluição em caldo. Ainda, o estudo de Tohidpour e colaboradores (2010) com o óleo essencial (12 µL) das partes aéreas de *E. globulus* demonstraram zona de inibição de 7 mm para *E. coli* e 17 mm para *S. aureus*. Corroborando com esses dados, um estudo de Vratnica e colaboradores (2011) sobre a atividade antimicrobiana de óleo essencial de folhas de Eucalipto, nas concentrações de 5, 10, 15, 20 e 30 µL do óleo essencial, tiveram, respectivamente, 23, 27, 33 e 39 mm de inibição para *S. aureus* e 23, 28, 32, 36 mm para *E. coli*.

Alzamora e colaboradores (2001) obtiveram como resultado halo de inibição de 13 mm de diâmetro para o óleo essencial puro de folhas de *Eucalyptus globulus* para *S. aureus*, não descrevendo sua concentração. Avaliando a atividade microbiológica de vários óleos essenciais pelo método de disco

difusão, Silva *et al.* (2014) encontraram halos de inibição para *E. coli* de 6 mm e 9 mm para *S. aureus*, utilizando o óleo essencial puro de folhas de Eucalipto por arraste a vapor. Já no trabalho de Mota, Turrini e Poveda (2015) foi observado um halo de 3 mm para *E. coli* e 9 mm para *S. aureus*. Em todos os três estudos houve diferenças sutis no tamanho dos halos observados, o que pode ser devido aos seus compostos que são encontrados em uma proporção maior, como componentes fenólicos e flavonoides, de forma que exerçam efeito bacteriostático mais pronunciado.

A potência dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* quando comparado com os extratos etanólicos deste estudo pode ser explicado pela hidrofobicidade de sua composição química. Por extrair moléculas hidrofóbicas, os óleos essenciais conseguem penetrar a membrana celular bacteriana com maior facilidade, provocando a lise das mesmas (SILVA, 2012). Segundo Kumar *et al.* (2012), o óleo essencial de *E. globulus* apresentou 31 componentes, que formaram 99,5% do óleo total, entre eles, composição com 1,8-cineol (33,6%), α -pineno (14,2%) e limoneno (10,1%) como componentes principais. O óleo continha ainda monoterpeno e monoterpeno oxigenado em 37,9 e 61,5%, respectivamente. O teor de 1,8-cineol do óleo de *E. globulus* relatado na literatura variou entre 18 e 65% enquanto α -pineno representaram 2–20% da composição (CIMANGA *et al.*, 2002).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram que os extratos etanólicos das cascas e folhas de *Eucalyptus globulus* Labill. possuem a capacidade de inibição do crescimento de *E. coli* e de *S. aureus*. O estudo inclui novas informações a respeito da potencial ação antimicrobiana dos extratos de Eucalipto. Além disso, os dados deste estudo

contribuem para a ampliação do espectro de atividade biológica do *Eucalyptus globulus*. No entanto, outros estudos devem ser realizados visando investigar o potencial antibacteriano descrito neste trabalho como a determinação da concentração mínima inibitória e o emprego de testes quantitativos.

O estudo demonstra que a espécie vegetal investigada pode contribuir com a descoberta e desenvolvimento de novas terapias antimicrobianas. Porém, sua química detalhada e sua atividade biológica devem ser melhor exploradas. Este estudo além de contribuir para a ampliação dos conhecimentos biológicos de Eucalipto contribui com a valorização da biodiversidade mineira.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE

Nada a declarar.

REFERÊNCIAS

- AIT-OUAZZOU, A.; LORÁN, S.; BAKKALI, M.; LAGLAOUI, A.; ROTA, C.; HERRERA, A.; PAGÁN, R.; CONCHELLO, P. Composição química e atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* e *Rosmarinus officinalis* do Marrocos. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, ed. 14, p. 2643-2651, 2011. DOI 10.1002 / jsfa.4505. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21769875/>. Acesso em: 29 maio 2021.
- ALZAMORA, L.; MORALES, L.; ARMAS, L.; FERNÁNDEZ, G. Medicina Tradicional en el Perú: actividad antimicrobiana *in vitro* de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas medicinales. **An. Fac. Med. (Perú)**, v. 62, ed. 2, p. 156-161, 2001. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-289396>. Acesso em: 1 jun. 2021.
- BACHIR, R.; BENALI, M. Atividade antibacteriana dos óleos essenciais das folhas de *Eucalyptus globulus* contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Asian Pac J Trop Biomed.**, v. 2, ed. 9, p. 739–742, 2012. DOI 10.1016 / S2221-1691 (12) 60220-2. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3609378/>. Acesso em: 26 maio 2021.

BRAGATTO, J. **Avaliação do potencial da casca de *Eucalyptus spp.* para a produção de bioetanol.** 2010. Tese (Doutorado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas). Universidade de São Paulo / USP. Piracicaba – SP. DOI 10.11606/T.11.2010.tde-13122010-104913. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11144/tde-13122010-104913/publico/Juliano_Bragatto.pdf. Acesso em: 24 maio 2021.

BRITO, B.; TAGLIARI, K.C. Sensibilidade antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de leitões com diarreia após o desmame. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, ed. 1, p. 133-137, 2010. DOI <https://doi.org/10.1590/S1516-89132000000100017>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/babt/a/b35DLCCfq5SJRZJHsbpPz/?lang=pt#>. Acesso em: 25 maio 2021.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; BRUYNE, T.D.; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, ed. 2, p. 213-220, 2002. DOI 10.1016/s0378-8741(01) 00384-1. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11801384/>. Acesso em: 1 jun. 2021.

COSTA, I.A.C.; MATA, M.R.; SOUZA, M.C.; PINTO, S.C.V.; MAGALHÃES, S.W.F.; MENDES, T.G.R.; COSTA, V.T.; MOTTA, P.G.; OLIVEIRA, M.E. Infecção do trato urinário causada por *Escherichia coli*: revisão de literatura. **SALUSVITA**, Bauru, v. 38, n. 1, p. 155-193, 2019. Disponível em: https://secure.unisagrado.edu.br/static/biblioteca/salusvita/salusvita_v38_n1_2019/salusvita_v38_n1_2019_art_12.pdf. Acesso em: 25 maio 2021.

COSTA, M.M.; SILVA, M.S.; SPRICIGO, D.; MAZZINI, W.N.; MARCHIORO, S.B.; GIRARDINI, L.K.; VARGAS, A.C. Caracterização epidemiológica, molecular e perfil de resistência aos antimicrobianos de *Escherichia coli* isoladas de criatórios suínos do sul do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, ed. 1, p. 5-8, 2006. DOI 10.1590/S0100-736X2006000100002. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/26427421_Caracterizacao_epidemiologica_molecular_e_perfil_de_resistencia_aos_antimicrobianos_de_Escherichia_coli_isoladas_de_criatorios_suinos_do_sul_do_Brasil. Acesso em: 25 maio 2021.

DÍAZ, J.M. **Estudio de las características fisicoquímicas y fitoquímicas de las hojas de *Eucalyptus globulus* Labill. (Eucalipto).** 2018. Tese (Graduação de Farmacêutico Químico). Universidad Católica Los Ángeles Chimbote. Trujillo, Perú, Disponível em: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5099/CARACTERISTICAS_FISICOQUIMICAS_JUAREZ_DIAZ_JOSE_MIGUEL.pdf?sequence=3&isAllowe%20d=y. Acesso em: 1 jun. 2021.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **O Eucalipto**. Brasília, 2019. (Versão 3.111.1). Disponível em: <https://www.embrapa.br/florestas/transferecia-de-tecnologia/eucalipto>. Acesso em: 11 mar. 2021.

FRANCO, R.; MANTILLA, S.; GOUVÊA, R.; OLIVEIRA, L.A. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne e dejetos suínos. **Acta Veterinária Brasileira**, v. 4, ed. 1, p. 31-36, 2010. DOI <https://doi.org/10.21708/avb.2010.4.1.1511>. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/view/1511>. Acesso em: 25 maio 2021.

FURTADO, J.; AMORIM, A.; FERNANDES, M.; OLIVEIRA, M.A. Atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *Eucalyptus globulus*, *Justicia pectoralis* e *Cymbopogon citratus* frente a bactérias de interesse. **Journal of Health Sciences**, v. 17, ed. 4, 2015. DOI <https://doi.org/10.17921/2447-8938.2015v17n4p%25p>. Disponível em: <https://revista.pgsskroton.com/index.php/JHealthSci/article/view/3265>. Acesso em: 19 mar. 2021.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, ed. 2, p. 374-381, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200026>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/gn5mhqcFHSbXXgTKNL-JTS9t/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 2 jun. 2021.

GOMES, S.; COSENZA, B.A.; BITTENCOURT, A.H. Estudo e avaliação da ação antibacteriana de *Eucalyptus globulus* L. e *Allium sativum* L. sobre as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **SAPIENS: Revista de divulgação científica**. UEMG Carangola, v. 1, ed. 2, 2019. ISSN: 2596-156X. Disponível em: <https://revista.uemg.br/index.php/sps/article/view/3751/pdf>. Acesso em: 19 mar. 2021.

GUIMARÃES, D.; MOMESSO, L.; PUPO, M. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v.

33, ed. 3, p. 667-679, 2010. DOI <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000300035>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/dhKT3h4ZxxvsQdkzyZ4VnpB/?lang=pt#>. Acesso em: 31 mar. 2021.

KHAN, N.; ABBASI, A.M.; DASTAGIR, G.; NAZIR, A.; SHAH, G.M.; SHAH, M.M.; SHAH, M.H. Ethnobotanical and antimicrobial study of some selected medicinal plants used in Khyber Pakhtunkhwa (KPK) as a potential source to cure infectious diseases. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 14, ed. 122, 2014. DOI 10.1186/1472-6882-14-122. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24708514/>. Acesso em: 29 maio 2021.

KHAN, R.; ISLAM, B.; AKRAM, M.; SHAKIL, S.; AHMAD, A.A.; ALI, S.M.; SIDDIQUI, M.; KHAN, A.U. Atividade antimicrobiana de cinco extratos de ervas contra cepas multirresistentes a drogas (MDR) de bactérias e fungos de origem clínica. **Molecules**, v. 14, ed. 2, p. 586-597, 2009. DOI <https://doi.org/10.3390/molecules14020586>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/14/2/586>. Acesso em: 29 maio 2021.

KOLAYLI, S.; OCAK, M.; ALIYAZICIOGLU, R.; KARAOGU, S. Chemical analysis and biological activities of essential oils from trunk-barks of eight trees. **Asian Journal of Chemistry**, v. 21, ed. 4, 10 jan. 2009. Disponível em: http://www.asianjournalofchemistry.co.in/User/ViewFreeArticle.aspx?ArticleID=21_4_21. Acesso em: 3 jun. 2021.

KUMAR, P.; MISHRA, S.; MALIK, A.; SATYA, S. Análise composicional e atividade inseticida do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* (família: *Myrtaceae*) contra mosca doméstica (*Musca domestica*). **Acta Tropica**, v. 122, ed. 2, p. 212-218, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.01.015>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X12000162?via%3Dihub>. Acesso em: 1 jun. 2021.

LUÍS, A.; DUARTE, A.; GOMINHO, J.; DOMINGUES, F.; DUARTE, A, P. Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. **Industrial Crops and Products**, v.79, p, 274-282, 2016. ISSN 0926-6690, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.055>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Systematized Information on the National List of Medicinal Plants of Interest to SUS: *Eucalyptus globulus* Labill. (Eucalipto)**. 1ª ed., Brasília – DF: Editora MS Ministério da Saúde, 2018,

p. 66. ISBN 978-85-334-2657-3. Disponível em: https://bvsm.sau.de.gov.br/bvs/publicacoes/informacoes_sistematizadas_relacao_nacional_plantas_medicinais_interesse_sus_eucalipto.pdf. Acesso em: 29 maio 2021.

MOTA, V.S.; TURRINI, R.N.T.; POVEDA, V.B. Atividade antimicrobiana do óleo de *Eucalyptus globulus*, xilitol e papaína: estudo piloto. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 49, ed. 2, p. 216-220, 2015. DOI 10.1590/S0080-623420150000200005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/reeusp/a/tBnDBKzQCZ6tVHf4Chckqbg/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 3 jun. 2021.

NAVARRO, V.; VILLARREAL, M.L.; ROJAS, G.; LOZOYA, X. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. **Journal of Ethnopharmacology**, 53, ed. 3, p. 143-147, 1996. ISSN 0378-8741. DOI [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(96\)01429-8](https://doi.org/10.1016/0378-8741(96)01429-8). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378874196014298>. Acesso em: 29 maio 2021.

NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2013. Disponível em: https://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/manuais/clsi/clsi_OPASM2-A8.pdf. Acesso em: 25 mar. 2021

OMS. Organização Mundial da Saúde. 2019. **Resistência microbiana**. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/resistencia-microbiana-saiba-o-que-e-e-como-evitar>. Acesso em 02 Jan 2022.

RIBEIRO, C. M.; SOUZA, K.G.S.; RIBEIRO, T.A.C; VIEIRA, A.B.R.; MENDONÇA, L.C.V.; BARBOSA, W.L.R.; VIEIRA, J.M.S. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia. **Infarma – Ciências Farmacêuticas**, v. 21, n. 1/2, p. 45-49, 2009. ISSN 2318-9312. Disponível em: <http://revistas.cff.org.br/infarma&page=article&op=view&path%5B%5D=172&path%5B%5D=162>. Acesso em: 21 oct. 2021.

SCHUELER, Paulo. **Resistência a antibióticos e COVID-19**. Rio de Janeiro, Brasil: Bio-Manguinhos/Fiocruz, 8 jun. 2020. Disponível em: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/noticias/1823-modernidade-e-sustentabilidade-no-centro-tecnologico-de-plataformas-vegetais>. Acesso em: 31 mar. 2021.

SILVA, A.A.; BERGAMO, L.; CAMARGO, L.P.; FERNANDES, C.; MUSSATO, D.; CANAZART, D.; ABREU, B.A. Atividade microbiológica de óleos essenciais obtidos por arraste a vapor. **Revista Uningá Review**, v. 20, n. 3, 2014. ISSN 2178-2571. Disponível em: <http://revista.uninga.br/index.php/uningareviews/article/view/1604>. Acesso em: 3 jun. 2021.

SILVA, T.P. **Avaliação do processo de morte celular em bactérias aquáticas em dois modelos de ecossistemas aquáticos tropicais**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ecologia). Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora – MG. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/bitstream/ufjf/1934/1/thiagopereiradasilva.pdf>. Acesso em: 1 jun. 2021.

SILVA, M.G.; NUNAN, E. A.; ROCHA, M.P. Estudo químico e de atividade antibacteriana de extratos e óleo essencial de *Citrus x limonia*. **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, v.1, n.4, 2019.

TOHIDPOUR, U.; SATTARI, M.; OMIDBAIGI, R.; YADEGAR, A.; NAZEMI, J. Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Phytomedicine**,

v. 17, ed. 2, p. 142-145, 2010. DOI 10.1016/j.phymed.2009.05.007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19576738/>. Acesso em: 1 jun. 2021.

TORRES, Alfredo G. **Escherichia coli in the Americas**. Springer, 2016. P. 315. ISBN 978-3-319-45092-6.

VRATNICA, B.D.; DJAKOV, T.A.; SUKOVIC, D.; DAMJANOVIC, J. Antimicrobial effect of essential oil isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. from Montenegro. **Czech Journal of Food Sciences**, v.29, ed.3, p.277-284, 2011. DOI 10.17221/114/2009-CJFS. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/267030222_Antimicrobial_Effect_of_Essential_Oil_Isolated_from_Eucalyptus_globulus_Labill_from_Montenegro#:~:text=The%20results%20of%20the%20antimicrobial,Acinetobacter%20baumannii%2C%20and%20K%20lebsiella%20pneumoniae. Acesso em: 1 jun. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (Estados Unidos). Antimicrobial resistance. 13 out. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 31 mar. 2021.