

Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais do *Eucalyptus globulus* e *Citrus sinensis* frente a *Aeromonas hydrophila*

Evaluation of the antimicrobial activity of the essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Citrus sinensis* in front of *Aeromonas hydrophila*

Tayna Peixoto, Cristiane Antunes Teixeira, Camila Marina Verdi, Thais de Moraes Barin, Taiane Schneider.

Resumo:

Objetivo: Esse estudo tem o objetivo de avaliar o potencial antimicrobiano dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Citrus sinensis* frente a *Aeromonas hydrophila*, um dos microrganismos que está relacionado às infecções em peixes. **Métodos:** Realizou-se os testes de disco difusão com 10 µl dos óleos essenciais frente ao inóculo de *A. hydrophila* na escala 0,5 de McFarland, além da Concentração Inibitória Mínima (CIM) através da técnica de microdiluição em placas de 96 poços e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) retirando-se uma alíquota da CIM de cada óleo e inoculando em placa contendo o meio Mueller-Hinton. **Resultados:** A média dos halos de inibição em triplicata foram de 17 mm com o óleo essencial de *E. globulus* e de 25,7 mm com o óleo essencial de *C. sinensis*, ademais se obteve uma CIM de 5.758 µg/ml (m/v) com o óleo essencial de *E. globulus* e 330,7 µg/ml com o óleo essencial de *C. sinensis*, além de uma CBM de 5.758 µg/ml (m/v) com o óleo essencial de *E. globulus* e de 2.645 µg/ml (m/v) com o óleo essencial de *C. sinensis* frente a *A. hydrophila*. **Considerações finais:** Os óleos essenciais de *E. globulus* e *C. sinensis* possuem potencial antimicrobiano frente a bactéria *A. hydrophila*, podendo ser administrados no cultivo de peixes, diminuindo a contaminação bacteriana dos animais e posterior contaminação humana através do consumo de sua carne.

Palavras-chave: *Eucalyptus*; *Citrus sinensis*; *Aeromonas hydrophila*; Óleos Voláteis; Produtos com Ação Antimicrobiana.

Abstract:

Objective: This study aims to evaluate the antimicrobial potential of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Citrus sinensis* against *Aeromonas hydrophila*, one of the microorganisms that is related to infections in fish. **Methods:** Disk diffusion tests were performed with 10 µl of essential oils against the inoculum of *A. hydrophila* on the McFarland 0.5 scale, in addition to the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) through the microdilution technique in 96-well plates and the Bactericide Minimum Concentration (MBC) by removing an aliquot of the MIC from each oil and inoculating into a plate containing the Mueller-Hinton medium. **Results:** Mean inhibition halos in triplicate were 17 mm with *E. globulus* essential oil and 25.7 mm with *C. sinensis* essential oil, in addition to a MIC of 5.758 µg / ml (w/v) with the essential oil of *E. globulus* and 330.7 µg / ml with the essential oil of *C. sinensis*, in addition to CBM of 5.758 µg / ml (w/v) with the essential oil of *E. globulus* and 2645 µg / ml (w/v) with the essential oil of *C. sinensis* against *A. hydrophila*. **Conclusion:** *E. globulus* and *C. sinensis* essential oils have antimicrobial potential against *A. hydrophila* bacteria, and can be used in fish farming, reducing bacterial contamination of animals and subsequent human contamination through the consumption of their meat.

Keywords: *Eucalyptus*; *Citrus sinensis*; *Aeromonas hydrophila*; Oils, Volatile; Products with Antimicrobial Action.

Como citar este artigo:
PEIXOTO, T.; TEIXEIRA, C. A.;
VERDI, C. M.; BARIN, T. M.;
SCHNEIDER, T. Avaliação da
atividade antimicrobiana
dos óleos essenciais do
Eucalyptus globulus e
Citrus sinensis frente a
Aeromonas hydrophila.
Revista Saúde (Sta. Maria).
2024; 50.

Autor correspondente:
Nome: Tayna Peixoto
E-mail: tayna.peixoto@
hotmail.com

Formação: Acadêmica
do curso de Farmácia,
Universidade Regional
Integrada do Alto Uruguai e
das Missões (URI), Frederico
Westphalen, Rio Grande do
Sul, Brasil.
Filiação: Universidade
Regional Integrada do Alto
Uruguai e das Missões (URI)

Endereço: Rua Francisco
Ferreira Martins, nº90,
Bairro Lutz, Palmeira das
Missões - RS
CEP: 98300-000

Data de Submissão:
22/09/2021
Data de aceite:
02/03/2023

Conflito de Interesse: Não
há conflito de interesse

DOI:10.5902/2236583467777



INTRODUÇÃO

Aeromonas spp. são bactérias comumente encontradas em habitats de água doce e estão frequentemente associadas com infecções graves em espécies de peixes incluindo *Misgurnus anguillicaudatus* (Dojô), *Ictalurus punctatus* (bagre-americano), *Cyprinus carpio* (Carpa-comum) e *Oreochromis niloticus* (Tilápia-do-nilo), sendo principalmente a espécie *Aeromonas hydrophila* a causadora de mortalidade de peixes em massa^{1,2}. *A. hydrophila* é um patógeno Gram-negativo comumente encontrado no ambiente aquático, sendo agente causador da síndrome ulcerativa epizoótica, ulcerações, lesão na nadadeira caudal com focos hemorrágicos, congestão e hiperemia no tecido hepático, despigmentação tegumentar e erosão das barbatanas como os principais sinais clínicos³. Além disso, essa bactéria pode representar um risco para humanos, causando sérios problemas de saúde, como gastroenterite, meningite, infecções de feridas e septicemia com diversas manifestações clínicas em pacientes imunocomprometidos⁴. Sua capacidade de mobilidade permite que seja encontrada no solo, na água, no esgoto e nos alimentos, sendo capaz de se multiplicar e produzir exotoxinas até mesmo em temperaturas consideradas adequadas para refrigeração⁵.

Apesar da crescente intensificação da aquicultura nos países, contribuindo na produção mundial de alimentos para seres humanos, os surtos de doenças são considerados um grande problema para o seu desenvolvimento. O aumento da ocorrência de infecções bacterianas em instalações de aquicultura representa um sério risco para a saúde animal e humana^{6,7}.

Diante disso, antibióticos sintéticos comumente têm sido usados para tratar essas infecções, porém seu uso contínuo pode contribuir para o surgimento de resistência bacteriana, introduzindo riscos para o meio ambiente e a saúde pública, através de resíduos depositados em seus tecidos^{6,8}. Na aquicultura as substâncias antimicrobianas já foram extensivamente usadas como medidas profiláticas e tratamentos metafiláticos⁹. Atualmente há um grande interesse no desenvolvimento de tratamentos alternativos, com o intuito de combater as doenças de forma econômica e ecologicamente correta¹⁰.

O uso de plantas medicinais é um dos meios mais promissores para a prevenção e tratamento dessas doenças na aquicultura, fornecendo proteção mais longa do que as drogas sintéticas, além de possuir propriedades antioxidantes que podem atrasar ou interrom-

per os danos oxidativos⁹. Óleos essenciais são produtos voláteis derivados do metabolismo secundário de plantas, que normalmente encontram-se concentrados em uma determinada região, como folhas, frutos ou casca¹¹. Esses óleos têm demonstrado potencial antimicrobiano podendo ser usado no tratamento de infecções de peixes, sendo um método eficiente, barato, biodegradável rapidamente metabolizado e com um baixo risco de acúmulo nos tecidos⁸. A adoção de óleos essenciais em aditivos alimentares, prebióticos, probióticos e banhos terapêuticos, aumentam consideravelmente a chance de cura de doenças bacterianas, melhorando o sistema imunológico e conseqüentemente, a saúde dos peixes³. Os óleos essenciais possuem ação direta nas células bacterianas, pois possuem a capacidade de penetrar e agir sobre a membrana e o citoplasma do patógeno inibindo seus mecanismos de ação, alterando a morfologia celular e causando deformidades nas organelas¹².

O eucalipto é uma planta nativa da Austrália, que têm sido extensivamente introduzido em diferentes países, incluindo, o Brasil. O óleo de eucalipto é obtido das folhas e contém terpenos voláteis e compostos aromáticos, sendo amplamente utilizado com base em seus efeitos biológicos, incluindo atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, analgésicas e antimicrobiana, e por isso é empregado extensivamente em produtos farmacêuticos inalantes, estimulantes da secreção nasal, produtos de higiene bucal, ou ainda com a função de dar sabor e aroma aos medicamentos^{13,14}.

As frutas cítricas, também são amplamente exploradas, principalmente por indústrias alimentícias, que as utilizam como aditivos em produtos alimentares e bebidas. Além disso, possuem a vantagem de serem conservantes naturais pela sua ação antimicrobiana e antioxidante, devido a presença de terpenos, flavonoides, carotenos e cumarinas na sua composição¹⁵. Dentre essas frutas se destaca a *Citrus sinensis*, conhecida como laranja-doce e encontrada em regiões subtropicais. Seu óleo essencial contém de 85-99% de componentes voláteis e 1-15% não voláteis, sendo que os constituintes voláteis são uma mistura de monoterpenos (limoneno) e sesquiterpenos, hidrocarbonetos e derivados oxigenados¹⁶. O óleo essencial de *C. sinensis* é encontrado dentro das glândulas da camada externa da casca da fruta e possui atividades biológicas, como atividades antifúngicas, antioxidantes, anti-aflatoxigênicas e antimicrobianas devido especialmente ao limoneno^{16,17}.

A utilização de óleos essenciais como os citados, pode ser uma alternativa frente ao uso de antimicrobianos, trazendo para a aquicultura menor dano sanitário, visto que resíduos de antimicrobianos sintéticos no meio ambiente representam riscos para a saúde pública, e além disso podem representar uma barreira ao comércio internacional¹⁸. Na economia, a aquicultura tem um importante papel, gerando uma alta demanda devido ao valor nutritivo dos pescados, que vem ganhando notório destaque. Frequentemente, a produção em larga escala sofre perdas significativas por efeito de infecções bacterianas⁵. Os riscos para a saúde pública relacionados ao uso de antimicrobianos na aquicultura incluem a disseminação de genes de resistência e a presença de resíduos nos peixes. Esses genes de resistência antimicrobiana, podem ser transferidos das bactérias que infectam animais aquáticos para as bactérias que infectam humanos^{5,9}.

Sendo assim, esse estudo tem como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano dos óleos essenciais de *E. globulus* e *C. sinensis* frente a *A. hydrophila*, uma das espécies que está relacionada às infecções em peixes.

METODOLOGIA

ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais utilizados para a pesquisa foram *C. sinensis* e *E. globulus* da marca Vimontti® obtidos comercialmente da Agroindústria São Caetano Ltda.

Para a realização do teste de concentração inibitória mínima, foram preparadas soluções dos óleos essenciais utilizando *tween* 80 e água destilada estéril. Realizou-se uma solução para cada óleo.

MICROORGANISMO

A atividade antimicrobiana foi avaliada frente a *A. hydrophila* (ATCC 7966), cedida pelo Laboratório de Pesquisas em Microbiologia Oral (LAPEMICRO) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Os inóculos foram preparados de acordo com a escala 0,5 McFarland, através da suspensão de microrganismos em solução de salina para posterior avaliação da turbidez em turbidímetro digital.

TESTE DE DISCO DIFUSÃO

O ensaio de disco difusão foi utilizado como teste de *screening* para a avaliação da atividade antimicrobiana utilizando a metodologia descrita por Bauer et al (1966)¹⁹, com modificações. Utilizando um *swab* estéril, a suspensão do inóculo de *A. hydrophila* (ATCC 7966) foi padronizado na escala 0,5 McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL), sendo distribuído uniformemente sobre a superfície do ágar Mueller-Hinton como meio de cultura em placa de Petri. Posteriormente, foram preparados discos de papel filtro, embebendo cada um com 10 μ l do óleo essencial de *C. sinensis* na concentração de 846.600 μ g/ml (m/v) e 10 μ l do óleo essencial de *E. globulus* na concentração de 921.300 μ g/ml (m/v). Um disco sem óleo essencial foi usado como controle negativo em cada placa. Com pinça esterilizada, os discos com os óleos foram distribuídos uniformemente em triplicata mais o controle negativo sobre a superfície do ágar Mueller-Hinton. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 horas. Após, os halos formados pela difusão do óleo foram medidos em milímetros e os resultados foram expressos como a média dos três valores.

CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Teste de suscetibilidade realizado de acordo com *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018)²⁰. Os microrganismos foram diluídos em solução salina até obterem uma turbidez padronizada na escala 0,5 McFarland (equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Posteriormente distribuiu-se 100 μ L do meio de crescimento, caldo Mueller-Hinton, em todos os poços de uma microplaca de Elisa contendo 96 poços. Após foram adicionados 100 μ l de óleo essencial de *E. globulus*, 100 μ l de *tween* 80 (controle da solução) e 100 μ l de óleo essencial de *C. sinensis* nos poços correspondentes. Foram adicionados 10 μ l do inóculo de *A. hydrophila*, diluído a 1:20, nos poços testados. A 11ª fileira foi considerada o controle negativo, contendo somente o caldo e 10 μ L de óleo. Como controle positivo foram adicionados o meio de cultura mais 10 μ l de inóculo bacteriano na 12ª fileira. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica por 24 horas na temperatura de 37 °C. Passadas as 24h foram diluídos 0,10 g TTC (Trifenil-tetrazólio) em 100 mL de água destilada estéril e foram adicionadas 2 gotas da diluição em toda placa. A placa retornou à estufa bacterio-

lógica por 30 minutos a 37 °C, sendo posteriormente observada a coloração ou ausência dela na placa, definindo-se o crescimento bacteriano nos poços.

CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM)

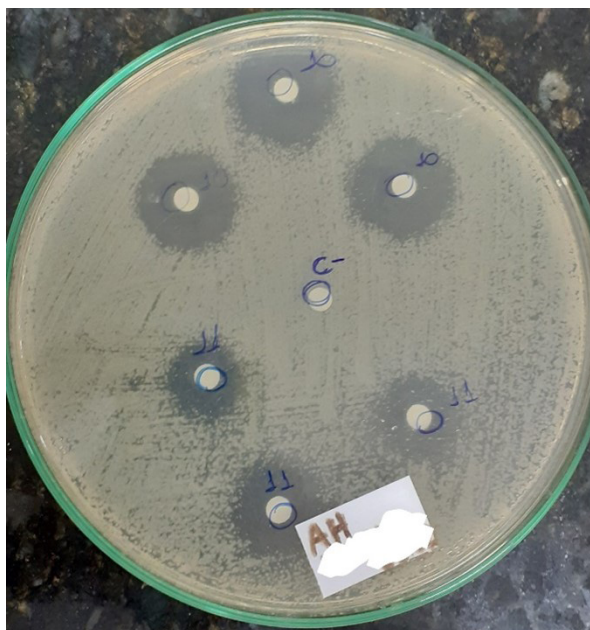
A concentração bactericida mínima (CBM) foi realizada logo após a revelação da CIM, utilizando a metodologia empregada por Soares Lopes et al (2019)²¹, com modificações. Placas contendo o meio Mueller-Hinton foram divididas em partes iguais, de acordo com o número dos poços com resultados na CIM. Foram semeados os poços em triplicata. Retirou-se com uma alça de platina uma alíquota de cada poço da CIM, desde o primeiro poço a não apresentar crescimento bacteriano, até a menor concentração que se encontrou inibição, sendo distribuído em triplicada. Incubou-se as placas por 24 horas. A leitura da CBM foi realizada de acordo com a menor concentração do composto em que não houve nenhum crescimento de colônias bacterianas.

RESULTADOS

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os resultados do teste de disco difusão para os óleos essenciais de *E. globulus* e *C. sinensis* são encontrados na tabela 1. Observou-se que os dois óleos essenciais testados apresentaram resultados satisfatórios, sendo comprovado através dos halos de inibição de crescimento a sensibilidade do microrganismo *A. hydrophila* frente aos óleos testados. Os resultados estão expressos na foto abaixo, sendo que o número 10 representa o óleo essencial de *C. sinensis* e o número 11 representa o óleo essencial de *E. globulus* e o disco central o controle negativo (C-).

Figura 1. Teste de Disco difusão



Fonte: Autores, 2020. Ação dos óleos da *C. sinensis* (10) e *E. globulus* (11) frente à bactéria *A. hydrophila*.

As medidas dos halos foram analisadas em milímetros com o auxílio de uma régua e resultaram em uma média de 25,7 mm para o óleo essencial de *C. sinensis* (10) e 17 mm de halo para o óleo essencial de *E. globulus* (11) frente *Aeromonas hydrophila*.

Tabela 1: Diâmetro dos halos dos óleos essenciais de *E. globulus* e *C. sinensis* frente a *A. hydrophila*

	<i>E. globulus</i>	<i>C. sinensis</i>
Halos (mm)	17 ± 1,0	25,7 ± 1,2

Os resultados foram expressos como a média ± desvio padrão de três determinações.

Já os resultados da CIM dos óleos de *E. globulus* e *C. sinensis*, frente a bactéria *A. hydrophila*, onde a CIM do óleo essencial de *E. globulus* foi 5.758 µg/ml (m/v) e do óleo essencial de *C. sinensis* foi 330,7 µg/ml (m/v). Para os valores de CBM encontrou-se 5.758 µg/ml (m/v) para o óleo essencial de *E. globulus*, e 2.645 µg/ml (m/v) do óleo essencial de *C. sinensis* (tabela 2).

Tabela 2: CIM e CBM dos óleos essenciais frente *A. hydrophila*

	CIM (µg/ml)	CBM (µg/ml)
<i>E. globulus</i>	5.758	5.758
<i>C. sinensis</i>	330,7	2.645

DISCUSSÃO

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais já é reportada na literatura, sendo que diferentes óleos apresentam diferentes composições que causam efeitos variados nas células bacterianas¹¹. Os óleos essenciais de *E.globulus* e *C.sinensis* são exemplos de óleos em que se encontra atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas^{14,22}. Por isso, são considerados alternativas interessantes frente aos antimicrobianos utilizados no tratamento de doenças ocasionadas por *A. hydrophila*⁸.

O presente estudo demonstrou a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *E. globulus* e *C. sinensis* frente a bactéria *A. hydrophila*. Nesse contexto, observou-se que o óleo essencial de *C. sinensis* se destacou pela sua capacidade de inibir o crescimento da bactéria *A. hydrophila*, obtendo um resultado mais relevante que o óleo essencial de *E. globulus*. O alto potencial antimicrobiano desse óleo contra *A. hydrophila*, pode ser responsável pela potencial melhora no bem-estar, saúde e desempenho de seres infectados com esse microrganismo²³.

Dessa forma, o teste de disco difusão exemplificou esse resultado satisfatório, onde o óleo essencial de *E. globulus* obteve uma média dos halos de 17 mm e o óleo essencial de *C. sinensis* obteve uma média dos halos de 25,7 mm. O teste semelhante apresentado por Debbarma et al (2013)²⁴ apresentou o diâmetro de 11,66 mm com 50 µl de óleo essencial de *E. globulus*, no entanto não se obteve halo com a mesma quantidade de óleo essencial de *C. sinensis*. Por outro lado, Madhuri et al (2014)²⁵ apresentou o resultado de 12 mm de diâmetro de halo utilizando o extrato de *C. sinensis* frente a *Bacillus cereus*, 13 mm frente a *Shigella flexneri* e 14 mm frente a *Klebsiella pneumoniae*, sendo esses resultados significativos, no entanto, no presente estudo se demonstrou uma maior sensibilidade do microrganismo *A. hydrophila* frente ao óleo de *C. sinensis*. Ademais, levando em consideração outros óleos essenciais em que a *A. hydrophila* se mostrou sensível pelo teste de disco difusão, como *Zingiber officinale* e *Anethum graveolens*²⁶, se observa semelhante atividade em comparação aos óleos essenciais de *E. globulus* e *C. sinensis*, visto que os resultados encontrados para o óleo essencial de *Z. officinale* variaram entre 10,33 à 22,33 mm de diâmetro de inibição, e o melhor resultado encontrado para o óleo essencial de *A. graveolens* ficou restrito a 25,33 mm de diâmetro de inibição.

Ainda, se nota que o óleo essencial de *C. sinensis* se mostrou superior aos óleos citados, obtendo uma média de diâmetro mais elevada do que até mesmo o maior dos halos obtidos através dos testes realizados por Snuossi et al (2016)²⁶.

Os resultados do teste de CIM, também revelaram ação inibitória dos óleos essenciais, sendo que o óleo essencial de *E. globulus* obteve sua CIM com 5.758 µg/ml (m/v). Debbarma et al (2013)²⁴, no entanto, encontrou resultados mais satisfatórios em relação ao óleo essencial de *Eucalyptus*, obtendo uma CIM de 125 µg/ml (m/v) frente à *A. hydrophila*, além demonstrar a atividade desse óleo frente a outros microrganismos como *B. subtilis*, *Salmonella Typhi*, *Salmonella Typhimurium* e *P. aeruginosa* com concentrações na faixa de 7,81-125 µg/ml (m/v). Quando testado com outras bactérias que causam doenças em peixes, como *Edwardsiella tarda*, *Vibrio harveyi*, *Photobacterium damsela*, *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus iniae* e *Streptococcus parauberis*, o óleo essencial de *E. globulus* demonstrou atividade semelhante ao presente estudo, apresentando uma CIM variando de 7.812 a 31.248 µg/mL (m/v)²⁷.

Todavia, o óleo essencial de *C. sinensis*, obteve sua CIM na concentração de 330,7 µg/ml (m/v). Em comparação com o estudo realizado por Lawal et al (2013)²⁸ que obteve a CIM de 250 µg/ml (m/v) utilizando o extrato de *C. sinensis*, o óleo essencial mostrou atividade similar, isso porque os valores são aproximados levando em consideração que a concentração em que se iniciou o teste foi diferente nos dois estudos. Já Debbarma et al (2013)²⁴ não conseguiu obter uma concentração menor que 1.000 µg/ml (m/v) do óleo essencial de *C. sinensis* frente a *A. hydrophila*, bem como frente a outros microrganismos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, possivelmente devido a variação na proporção dos compostos com atividade antimicrobiana.

Neste estudo, também se demonstrou a CBM, em que o óleo essencial de *E. globulus* exibiu a capacidade de inibir o crescimento do microrganismo através de sua ação bactericida, já que a CBM encontrada foi equivalente a CIM (5.758 µg/ml), isso porque nessa concentração após 48h, não houve crescimento de nenhuma colônia em triplicata. Da mesma maneira, a literatura já citada também demonstrou a CBM do óleo essencial de *E. globulus*, sendo assim, Debbarma et al (2013)²⁴, e Park et al (2016)²⁷, obtiveram os seguintes resultados respectivamente: o primeiro obteve uma CBM de 500 µg/ml quando testado

frente a *A. hydrophila*, ou seja, houve a necessidade aumentar consideravelmente a concentração do CIM para que ocorresse a morte do microrganismo; o segundo da mesma maneira exibiu um aumento expressivo nas concentrações do óleo para a visualização da CBM, com resultados variando entre 62.500 até 250.000 µg/ml (m/v).

A CBM do óleo essencial de *C. sinensis*, contudo, foi verificada na concentração de 2.645 µg/ml (m/v). O que demonstra que mesmo possuindo alta capacidade de inibição, esse óleo necessita de uma concentração significativa para ocasionar a morte de *A. hydrophila*. Lawal et al (2013)²⁸ também observou isso em seu estudo com o extrato da *C. sinensis*, visto que somente o quádruplo da CIM (1 mg/ml) foi capaz de provocar um efeito bactericida.

Essas diferenças encontradas comparando os diferentes estudos, demonstram que por mais que os óleos essenciais sejam das mesmas espécies de plantas, há diferenças em suas composições que estão relacionadas com as condições ambientais em que essas plantas se desenvolveram, bem como, clima, altitude, condições do solo, exposição ao sol dentre outras características. Isso provoca diferentes potenciais de atividade antimicrobiana, que pode ser considerada uma limitação do estudo de óleos essenciais.

No entanto, a utilização desses óleos é uma opção viável, que pode ser implantada por piscicultores, no tratamento de doenças ocasionadas em peixes. Ainda, pode-se pensar no uso combinado desses óleos essenciais com antimicrobianos de alta potência, como o Florfenicol (CIM de 8 µg/ml) que é um medicamento extensivamente utilizado na piscicultura e por isso, vem provocando o desenvolvimento de cepas bacterianas resistentes^{29,30}. Nesse sentido, o uso combinado pode ser uma opção de redução do consumo de antimicrobianos, que são contaminantes importantes e causam o aumento na velocidade do desenvolvimento da resistência. E esses resultados apresentados, demonstram que os óleos essenciais de *E. globulus* e *C. sinensis* possuem boa atividade antimicrobiana, sendo que o óleo essencial de *C. sinensis* se destaca pelo seu potencial de inibição do crescimento de *A. hydrophila* necessitando de pequenas concentrações do óleo para obtenção de resultado satisfatório.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto, ficaram comprovadas as eficácias de ambos os óleos essenciais de *E. globulus* e *C. sinensis* como potenciais antimicrobianos frente a bactéria *A. hydrophila*.

Podendo ser utilizados para melhorar o desempenho no cultivo de peixes e podendo ser administrados em terapias a pacientes infectados em decorrência do consumo de alimentos contaminados com esse microrganismo.

O óleo essencial de *C. sinensis* se destaca por apresentar resultados animadores no teste de disco difusão e CIM frente *A. hydrophila*. Dessa maneira, pode-se pensar em posteriores estudos utilizando a combinação desse óleo essencial e um antimicrobiano com potencial conhecido, para avaliação de aumento de potência e diminuição de dosagens, bem como, estudos in vivo em peixes.

REFERÊNCIAS

1. Akmal M, Rahimi-Midani A, Hafeez-ur-Rehman M, Hussain A, Choi T-J. Isolation, Characterization, and Application of a Bacteriophage Infecting the Fish Pathogen *Aeromonas hydrophila*. *Pathogens*. 2020;9:1-13
2. El-Gawad EAA. Effect of dietary *Moringa oleifera* leaf on the immune response and control of *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. *Aquac Int*. 2020;28:389-402.
3. Baldissera MD, Souza CF, Doleski PH, de Vargas AC, Duarte MMMF, Duarte T, et al. *Melaleuca alternifolia* essential oil prevents alterations to purinergic enzymes and ameliorates the innate immune response in silver catfish infected with *Aeromonas hydrophila*. *Microb Pathog*. 2017;109:61–6.
4. Deepika MS, Thangam R, Vijayakumar TS, Sasirekha R, Vimala RTV, Sivasubramanian S, et al. Antibacterial synergy between rutin and florfenicol enhances therapeutic spectrum against drug resistant *Aeromonas hydrophila*. *Microb Pathog*. 2019;135:103612.
5. Bonin MCB, Penteado AL, Queiroz SC do N de. Atividade antimicrobiana de componentes e óleos essenciais frente aos patógenos *A. Hydrophila* e *S. Agalactiae*. CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, Brasil, 2020.

6. Abdel-Latif HMR. Dietary oregano essential oil improved antioxidative status, immune-related genes, and resistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish and Shellfish Immunology*. 2020;104:1-7.

7. Mastrochirico-Filho VA, Ariede RB, Freitas MV, Lira LVG, Agudelo G, Pilarski F, et al. Genetic parameters for resistance to *Aeromonas hydrophila* in the Neotropical fish pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture*. 2019;513:734-442.

8. Souza EMD, Souza RCD, Melo JFB, Costa MMD, Souza SAD, Souza AMD, et al. *Cymbopogon flexuosus* essential oil as an additive improves growth, biochemical and physiological responses and survival against *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia. *An Acad Bras Ciênc*. 2020;92:1-12.

9. Asely AE. *Ziziphus mauritiana* supplementation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet for improvement of immune response to *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish Physiol Biochem*. 2020;46:1561-1575.

10. Abdel-Tawwab M, Samir F, Abd El-Naby AS, Monier MN. Antioxidative and immunostimulatory effect of dietary cinnamon nanoparticles on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) and its susceptibility to hypoxia stress and *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish Shellfish Immunol*. 2018;74:19-25.

11. Silveira S, Jr A, Scheuermann G, Secchi F, Verruck S, Krohn M, et al. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Eucalyptus paniculata* (eucalipto) e *Lavandula angustifolia* (lavanda). *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2012;71:471-80.

12. Dawood MAO, El Basuini MF, Zaineldin AI, Yilmaz S, Hasan MdT, Ahmadifar E, et al. Antiparasitic and Antibacterial Functionality of Essential Oils: An Alternative Approach for Sustainable Aquaculture. *Pathogens*. 2021;10(2):185.

-
13. Aldoghaim F, Flematti G, Hammer K. Antimicrobial Activity of Several Cineole-Rich Western Australian Eucalyptus Essential Oils. *Microorganisms*. 2018;6(4):122.
 14. Mota V de S, Turrini RNT, Poveda V de B. Antimicrobial activity of Eucalyptus globulus oil, xylitol and papain: a pilot study. *Rev Esc Enferm USP*. 2015;49(2):0216–20.
 15. Dosoky NS, Setzer WN. Biological Activities and Safety of Citrus spp. Essential Oils. *Int J Mol Sci*. 2018;19:01-25.
 16. Acar Ü, Kesbiç OS, Yılmaz S, Gültepe N, Türker A. Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. *Aquaculture*. 2015;437:282–6.
 17. Geraci A, Di Stefano V, Di Martino E, Schillaci D, Schicchi R. Essential oil components of orange peels and antimicrobial activity. *Nat Prod Res*. 2017;31(6):653–9.
 18. Leira MH, Reghim LS, Ciacci L da S, Cunha LT da, Botelho HA, Braz MS, et al. Problemas sanitários das pisciculturas brasileiras. *Pubvet*. 2017;11(6):538–44.
 19. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 1966;45(4):493-6.
 20. CLSI M45 - Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria. 2018
 21. Soares Lopes LQ, Ramos AP, Copetti PM, Acunha TV, Iglesias BA, Vianna Santos RC, et al. Antimicrobial activity and safety applications of meso-tetra(4-pyridyl)platinum(II) porphyrin. *Microb Pathog*. 2019;128:47–54.

22. Eliuz EAE, Yabalak E, SICAK Y. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Citrus sinensis: interaction with ampicillin and fluconazole. Rev. Roum. Chim. 2020;65:899-907.
23. Assane IM, Valladão GMR, Pilarski F. Chemical composition, cytotoxicity and antimicrobial activity of selected plant-derived essential oils against fish pathogens. Aquac Res. 2021;52(2):793–809.
24. Debbarma J, Kishore P, Nayak BB, Kannuchamy N, Gudipati V. Antibacterial Activity of Ginger, Eucalyptus and Sweet Orange Peel Essential Oils on Fish-Borne Bacteria. J Food Process Preserv. 2013;37(5):1022–30.
25. Madhuri S, Ashwini U. Hegde, Srilakshmi NS, Prashith Kekuda TR. Antimicrobial activity of Citrus sinensis and Citrus aurantium peel extracts. J Pharm Sci Innov. 2014;3:366–8.
26. Snuossi M, Trabelsi N, Ben Taleb S, Dehmeni A, Flamini G, De Feo V. Laurus nobilis, Zingiber officinale and Anethum graveolens Essential Oils: Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities against Bacteria Isolated from Fish and Shellfish. Mol Basel Switz. 2016;21(10):1-20.
27. Park J-W, Wendt M, Heo G-J. Antimicrobial activity of essential oil of Eucalyptus globulus against fish pathogenic bacteria. Lab Anim Res. 2016;32(2):87–90.
28. Lawal D, Bala JA, Aliyu SY, Huguma MA. Phytochemical Screening and In Vitro Anti-Bacterial Studies of the Ethanolic Extract of Citrus Senensis (Linn.) Peel against some Clinical Bacterial Isolates. Int J Innov Appl Stud. 2013;2(2):138–45.
29. Assane IM, Gozi KS, Valladão GMR, Pilarski F. Combination of antimicrobials as an approach to reduce their application in aquaculture: Emphasis on the use of thiamphenicol/florfenicol against Aeromonas hydrophila. Aquaculture. 2019;507:238–45.

30. Wang M, Xie X, Wang M, Wu J, Zhou Q, Sun Y. The bacterial microbiota in florfenicol contaminated soils: The antibiotic resistome and the nitrogen cycle. *Environ Pollut.* 2020;259:113901.