



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO
E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM MEDICAMENTO
PPgDITM - UFPB/UFRN/UFC/UFRPE**



ANDREA FERNANDA RAMOS DE PAULA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO
ESSENCIAL, NANOEMULSÃO e NANOEMULGEL DE *Eucalyptus
staigeriana* SOBRE CEPAS DE *Klebsiella pneumoniae***

JOÃO PESSOA
2025

ANDREA FERNANDA RAMOS DE PAULA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO
ESSENCIAL, NANOEMULSÃO e NANOEMULGEL DE *Eucalyptus
staigeriana* SOBRE CEPAS DE *Klebsiella pneumoniae***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba como requisito para a obtenção do título de Doutora em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho

Coorientador: Prof. Dr. Elquio Eleamen Oliveira

JOÃO PESSOA
2025

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

P324a Paula, Andrea Fernanda Ramos de.

Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial, nanoemulsão e nanoemulgel de Eucalyptus staigeriana sobre cepas de Klebsiella pneumoniae / Andrea Fernanda Ramos de Paula. - João Pessoa, 2025. 88 f. : il.

Orientação: Abrahão Alves de Oliveira Filho.

Coorientação: Elquio Eleamen Oliveira.

Tese (Doutorado) - UFPB/PPgDITM.

1. Farmacologia. 2. Fitoterapia. 3. Microbiologia. 4. Nanotecnologia. I. Oliveira Filho, Abrahão Alves de. II. Oliveira, Elquio Eleamen. III. Título.

UFPB/BC

CDU 615(043)

ANDREA FERNANDA RAMOS DE PAULA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO
ESSENCIAL, NANOEMULSÃO e NANOEMULGEL DE *Eucalyptus
staigeriana* SOBRE CEPAS DE *Klebsiella pneumoniae***

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, e aprovada em 25 de julho de 2025 pela Banca examinadora abaixo assinada:

Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho
Universidade Federal de Campina Grande
(Orientador)

Profa. Dra. Hilzeth de Luna Freire Pessoa
Universidade Federal da Paraíba
(Avaliador interno)

Documento assinado digitalmente



MARIA SORAYA PEREIRA FRANCO ADRIANO
Data: 06/10/2025 21:39:11-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. Maria Soraya Pereira Franco Adriano
Universidade Federal da Paraíba
(Avaliador interno)

Profa. Dra. Sonaly de Lima Silva
Faculdade de Goiana - FAG
(Avaliador externo)

Profa. Dra. Kivia Sales de Assis
Faculdade de Enfermagem Nova Esperança -FACENE
(Avaliador externo)

RESUMO

Infecções causadas por micro-organismos multirresistentes, como *Klebsiella pneumoniae*, são uma ameaça à saúde pública devido a seus complexos mecanismos genéticos. Nesse contexto, óleos essenciais de *Eucalyptus staigeriana* possuem propriedades antibacterianas promissoras, contudo, sua eficácia contra cepas Gram-negativas é limitada. Diante desse desafio, sistemas inovadores de entrega de fármacos, como nanoemulsões e nanoemulgeis, podem melhorar a estabilidade e eficácia desses óleos, o que evidencia a necessidade de mais pesquisas para confirmar seu potencial. Neste sentido, o estudo teve como objetivo geral avaliar as atividades antibacterianas do óleo essencial, nanoemulsão e nanoemulgel de *Eucalyptus staigeriana* contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*, contemplando a obtenção, desenvolvimento e caracterização dos sistemas nanoestruturados. Para o óleo essencial, foi realizada análise cromatográfica e determinadas a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) por microdiluição em placas, e a Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) por tubos de ensaio. A associação do óleo essencial com antibacterianos foi avaliada por difusão em meio sólido. Para os sistemas emulsionados, determinou-se o valor do Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) para a emulsificação do óleo essencial. As nanoemulsões foram produzidas por ultrassonicação, utilizando óleo essencial, surfactantes (Span® 80 + Tween® 80) e água ultrapura, e analisadas quanto às características organolépticas e físico-químicas. O tamanho médio de gotícula e o índice de polidispersão (PDI) foram determinados utilizando o Zetasizer Ultra Red. A melhor formulação foi selecionada e sua estabilidade avaliada do D1 ao D90. O nanoemulgel foi preparado incorporando a nanoemulsão em uma base de gel com carbopol 1%, seguindo os mesmos critérios de avaliação das nanoemulsões para caracterização e estabilidade. A atividade antibacteriana da nanoemulsão foi avaliada por CIM e CBM, enquanto o nanoemulgel foi testado por difusão em ágar por poço. O óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* mostrou forte atividade antibacteriana com CIM de 500µg/mL e CBM superior a 1000 mg/mL, demonstrando efeito bacteriostático. Além de maior atividade antiaderente na proporção de 1:2 comparado ao digluconato de clorexidina. Quando combinado com ciprofloxacino, um efeito sinérgico mais pronunciado foi observado. Os principais componentes do óleo essencial foram: silvestreno (40,81%), geraniol (13,45%), nerol (9,53%), terpinoleno (5,75%) e geranato de metila (6,16%). A nanoemulsão otimizada (15% de óleo, 10% de tensoativos e 75% de água, EHL12) apresentou propriedades físico-químicas e organolépticas satisfatórias, com menor PDI (0,19) e diâmetro médio de gotícula ≤ 100 nm (94,29 nm), mantendo a atividade antibacteriana. Tanto a nanoemulsão quanto o nanoemulgel mantiveram-se estáveis por até 90 dias, e o nanoemulgel também demonstrou eficácia antibacteriana contra as mesmas cepas. Conclui-se que o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* e as formulações de nanoemulsão e nanoemulgel, possuem ação antimicrobiana eficaz contra *Klebsiella pneumoniae*, mostrando-se promissor para o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos.

Palavras-chave: Farmacologia; Fitoterapia; Microbiologia; Nanotecnologia.

ABSTRACT

Infections caused by multidrug-resistant microorganisms, such as *Klebsiella pneumoniae*, are a threat to public health due to their complex genetic mechanisms. In this context, essential oils of *Eucalyptus staigeriana* have promising antibacterial properties, however, their efficacy against Gram-negative strains is limited. Faced with this challenge, innovative drug delivery systems, such as nanoemulsions and nanoemulgels, can improve the stability and efficacy of these oils, which highlights the need for more research to confirm their potential. In this sense, the general objective of the study was to evaluate the antibacterial activities of the essential oil, nanoemulsion and nanoemulgel of *Eucalyptus staigeriana* against strains of *Klebsiella pneumoniae*, encompassing the obtention, development, and characterization of the nanostructured systems. For the essential oil, chromatographic analysis was performed and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were determined by microdilution in plates, and the Minimum Adhesion Inhibitory Concentration (CIMA) by test tubes. The association of the essential oil with antibacterials was evaluated by diffusion in solid medium. For the emulsified systems, the value of the Hydrophilic-Lipophilic Equilibrium (EHL) was determined for the emulsification of the essential oil. The nanoemulsions were produced by ultrasonication, using essential oil, surfactants (Span® 80 + Tween® 80) and ultrapure water, and analyzed for organoleptic and physicochemical characteristics. Mean droplet size and polydispersion index (PDI) were determined using Zetasizer Ultra Red. The best formulation was selected and its stability evaluated from D1 to D90. The nanoemulgel was prepared by incorporating the nanoemulsion into a gel base with 1% carbopol, following the same evaluation criteria as nanoemulsions for characterization and stability. The antibacterial activity of the nanoemulsion was evaluated by MIC and CBM, while the nanoemulgel was tested by diffusion on well agar. The essential oil of *Eucalyptus staigeriana* showed strong antibacterial activity with MIC of 500 µg/mL and MBC greater than 1000 mg/mL, demonstrating bacteriostatic effect. In addition to greater non-stick activity in a ratio of 1:2 compared to chlorhexidine digluconate. When combined with ciprofloxacin, a more pronounced synergistic effect was observed. The main components of the essential oil were: sylvan (40.81%), geraniol (13.45%), nerol (9.53%), terpinolene (5.75%) and methyl geranate (6.16%). The optimized nanoemulsion (15% oil, 10% surfactants and 75% water, EHL12) showed satisfactory physicochemical and organoleptic properties, with lower PDI (0.19) and mean droplet diameter ≤ 100 nm (94.29 nm), maintaining the antibacterial activity. Both the nanoemulsion and the nanoemulgel remained stable for up to 90 days, and the nanoemulgel also demonstrated antibacterial efficacy against the same strains. It is concluded that the essential oil of *Eucalyptus staigeriana* and the formulations of nanoemulsion and nanoemulgel, have effective antimicrobial action against *Klebsiella pneumoniae*, showing promise for the development of new pharmaceutical products.

Keywords: Pharmacology; Phytotherapy; Microbiology; Nanotechnology.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

Madre Teresa de Calcutá

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ser minha força, meu sustento e minha inspiração. Sua presença constante foi uma fonte inesgotável de amor, especialmente quando as dificuldades pareciam insuperáveis. Em Sua graça, encontrei a coragem para ter fé, perseverar e seguir firme.

À minha família, minha base e meu porto seguro, minha gratidão eterna. Aos meus pais, Maria Edileuza Ramos e Fernando Dantas que sempre acreditaram no meu potencial e me incentivaram a seguir meus sonhos, oferecendo apoio incondicional e amor em todos os momentos. Aos meus irmãos, Alane Renali e Arthur Williams por serem meu apoio emocional, aos meus amados sobrinhos, Neto, Daniel, Guilherme e Miguel, pelos abraços e beijinhos e por me lembrar de sorrir mesmo nas situações mais difíceis.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Abrahão Alves, cujo apoio incansável, orientação sábia e paciência foram fundamentais para o desenvolvimento desta tese. Seu conhecimento profundo e sua dedicação em cada etapa do processo não só enriqueceram este trabalho, mas também me inspiraram a atingir o meu melhor. Sua generosidade e simplicidade, tanto intelectual quanto humana, é uma fonte constante de inspiração para todos que têm a sorte de conhecê-lo. Diante de tantos desafios que passamos desde o processo de seleção, ele sempre transmite alegria, tranquilidade, segurança, disponibilidade em ajudar e é um suporte emocional forte para seus alunos, nunca larga a mão de ninguém. Sou grata por ter me dado a oportunidade de trilhar esse caminho, de aprender com você, por suas valiosas contribuições e pela confiança que depositou em mim.

À minha querida amiga e irmã, Viviane Araújo, sua amizade e apoio ímpar constantes durante esta jornada foram um presente inestimável; sou profundamente grata por tê-la em minha vida e por sua presença afetuosa e encorajadora, desde a graduação e em todos os momentos da minha trajetória.

À amiga que ganhei com este doutorado, Ravenna Leite, sua amizade iluminou cada etapa deste percurso. Compartilhamos experimentos de bancada, enfrentamos os percalços dos testes, rimos das nossas falhas, saboreamos incontáveis cafés e tivemos conversas profundas nos momentos bons e ruins. Enfrentamos seminários desafiadores e aprendemos juntas. Sou eternamente grata por sua presença inspiradora e seu apoio incondicional, que vou levar para vida.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Elquio Eleamen, expressei minha gratidão pelos ensinamentos valiosos e pela acolhida calorosa ao LSVM-UEPB. Sua orientação e apoio foram fundamentais para o meu desenvolvimento acadêmico e pessoal. Sua competência e disposição em compartilhar sabedoria enriqueceram imensamente esta tese. Sou grata pela confiança depositada em mim e pelos momentos de aprendizado proporcionados. Estendo também minha gratidão aos demais colegas do laboratório: Adriana, Carlos, Luciana, Michele, Rodrigo, e Prof. Dr. Chico, pelo acolhimento e partilha durante o período que estivemos juntos.

À professora excepcional, Dra. Hilzeth Luna, cuja competência profissional e humanidade são uma constante fonte de inspiração para mim. Sempre me incentivou a seguir o caminho do doutorado, oferecendo acolhimento e apoio incondicional. Desde a

graduação, passando pela minha banca de TCC, até abrir as portas do seu laboratório - LABETOX-IpeFarM-UFPB para a realização dos ensaios microbiológicos da tese, sua presença foi fundamental em momentos cruciais e uma verdadeira guia cuja generosidade se fez presente em ocasiões importantes. Sou profundamente grata por todo o apoio e pela inspiração que você representa em todos os aspectos.

Aos colegas e amigos do trabalho do Departamento de Diagnóstico, Práticas Laboratoriais e Odontológicas - UFPB, em nome das Profa. Dra. Fabíola Fialho e Profa. Dra. Maria Soraya Pereira e das queridas Patrícia Meira, Rosário e Marizilda expresso minha sincera gratidão pelo apoio e incentivo na trajetória acadêmica e pelos valiosos aprendizados.

A todos os integrantes da minha banca, expresso minha sincera gratidão pela inestimável contribuição e pela generosa disponibilidade de tempo dedicada ao aprimoramento deste trabalho. Certamente, esta pesquisa não teria alcançado seu nível atual de excelência sem a valiosa colaboração de cada um de vocês.

A todos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a realização e conclusão desta trajetória, expresso minha profunda gratidão. Cada apoio, incentivo e colaboração foram fundamentais para o sucesso deste trabalho. Que Deus abençoe a cada um de vocês!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morfologia das colônias e imagem microscópica da coloração de Gram de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	19
Figura 2. Heterogeneidade da suscetibilidade aos antibióticos das bactérias em biofilmes.....	21
Figura 3. Estruturas químicas dos principais componentes dos óleos essenciais de eucalipto.....	28
Figura 4. Aspectos botânicos do <i>Eucalyptus staigeriana</i>	30
Figura 5. Tipos de nanoemulsões.....	33
Figura 6. Diferentes tipos de instabilidade que podem ocorrer em sistemas de nanoemulsões.....	34
Figura 7. Desenho metodológico do estudo.....	38
Figura 8. Esquema de microdiluição em placas de 96 poços.....	41
Figura 9. Ilustração dos aspectos macroscópicos, cor e estabilidade dos sistemas emulsionados (formação de fases).....	46
Figura 10. Cromatograma do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	50

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1. Composição das diferentes formulações, nanoemulsões contendo óleo <i>Eucalyptus staigeriana</i> , para estudo de otimização.....	45
Tabela 1. Mecanismos de resistência de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
Tabela 2. Parâmetros de avaliação do estudo de associação da substância teste com antibacterianos.....	43
Tabela 3. Valores do Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) para preparo de nanoemulsões contendo óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> , para análise da influência da quantidade de tensoativos.....	44
Tabela 4. Constituintes químicos do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	49
Tabela 5. Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> frente a cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	51
Tabela 6. Concentração Mínima de Aderência (CIMA) do óleo isolado de <i>Eucalyptus Staigeriana</i> frente a cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	54
Tabela 7. Associação do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> , aos antibacterianos.....	56
Tabela 8. Diâmetro médio da gotícula (SIZE) e índice de polidispersão (PDI) das nanoemulsões para análise de EHL do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	58
Tabela 9. Avaliação das propriedades organolépticas e físico-química de nanoemulsões contendo o óleo de <i>Eucalyptus staigeriana</i> do estudo de otimização.....	60

Tabela 10. Estudo de estabilidade da nanoemulsão e do nanoemulgel do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* em função do diâmetro da gotícula - SIZE, em nanômetro (nm)..... 63

Tabela 11. Estudo de estabilidade da nanoemulsão e do nanoemulgel do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* em função do índice de polidispersão (PDI).....63

Tabela 12. Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima do óleo isolado e da nanoemulsão de *Eucalyptus Staigeriana* frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae*.....66

LISTA DE ABREVIATURAS

AMH - Ágar Muller Hinton
AMP - Ampicilina
AMR- Resistência antimicrobiana
ATCC - American Type Culture Collection
BLAST - Basic Local Alignment Search Tool
CBM - Concentração Bactericida Mínima
CEF - Ceftriaxona
CG-ES- Cromatografia Gasosa acoplada ao detector por Espectrometria de Massas
CKp - *Klebsiella pneumoniae* clássico
CIM - Concentração Inibitória Mínima
CIMA - Concentração Inibitória Mínima de Aderência
CIP - Ciprofloxacina
COMTRADE - United Nations Commodity Trade Statistics Database
CPS - Cápsula bacteriana
DLS - espalhamento dinâmico de luz
Edna - DNA extracelular
EHL - Equilíbrio hidrofílico-lipofílico
ESBLs -Beta-lactamases de espectro estendido
ESKAPE - *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.
GEN - Gentamicina
HVKp- *Klebsiella pneumoniae* hipervirulento
IRAS - Infecções Relacionadas a Assistência à Saúde
Kp - *Klebsiella pneumoniae*
LDC - Lisina descarboxilase
LPS - Lipopolissacarídeo
MGEs - Elementos genéticos móveis
MH -Muller Hinton
MR - vermelho de metila
NCBI - National Center for Biotechnology Information
ODC - Ornitina descarboxilase
PCR - Reação em Cadeia da Polimerase
PDI - Índice de polidispersão
PIC - Composição de inversão de fase
PIT - temperatura de inversão de fase
PLGA - Ácido polilático-co-glicólico
RND - resistência-nodulação-divisão
ROS - Espécies reativas de oxigênio
SIZE - Diâmetro médio da gotícula
TSA - Tryptic Soy Agar
ZnS - Nanopartículas de sulfeto de zinco
VP - Voges-Proskauer

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 Geral:	17
2.2 Específicos:.....	17
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> : aspectos microbiológicos, virulência e resistência aos antibióticos.....	18
3.2 Óleos essenciais como produto farmacêutico.....	25
3.3 <i>Eucalypto staigeriana</i>	27
3.4 Nanoformulações.....	31
4. MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1 Tipo de estudo.....	38
4.2 Desenho metodológico	38
4.3 Substância teste e local dos ensaios laboratoriais.....	39
4.4 Meio de cultura e micro-organismos.....	39
4.5 Análise cromatográfica do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	40
4.6 Avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> contra às cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	40
4.7 Avaliação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> contra às cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	41
4.8 Avaliação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> contra às cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	42
4.9 Estudo da associação do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> com antibacterianos sintéticos comerciais.....	42
4.10 Preparo dos sistemas emulsionados contendo óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	43
4.11 Determinação do Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	43
4.12 Preparo das nanoemulsões contendo óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> para otimização de formulações	44
4.13 Avaliação das propriedades organolépticas das nanoemulsões contendo óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	46
4.14 Avaliação das propriedades físico-química das nanoemulsões contendo óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	46
4.15. Preparo do nanoemulgel contendo óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	47
4.16 Estudo de estabilidade da nanoemulsão e nanoemulgel contendo o óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	47
4.17 Avaliação da atividade antibacteriana da nanoemulsão e do nanoemulgel contendo o óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> frente às cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	48
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	49
5.1 Análise cromatográfica do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	49

5.2 Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> contra as cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	51
5.3 Obtenção dos sistemas emulsionados contendo óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	58
5.3.1 Determinação do Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) do óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	58
5.3.2 Estudo de otimização, avaliação das propriedades organolépticas e físico-química das nanoemulsões contendo óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	60
5.3.4 Estudo de estabilidade da nanoemulsão e nanoemulgel contendo o óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i>	62
5.4 Avaliação da atividade antibacteriana da nanoemulsão e do nanoemulgel contendo o óleo essencial de <i>Eucalyptus staigeriana</i> frente às cepas de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	66
6. CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS	71
ANEXO – Artigo publicado em periódico científico	89

1. INTRODUÇÃO

Infecções causadas por micro-organismos multirresistentes, como *Klebsiella pneumoniae*, representam uma séria ameaça à saúde pública global. Essa bactéria é uma das principais causadoras de septicemia, pneumonia e infecções do trato urinário, devido à sua crescente resistência a antibióticos e à capacidade de formar biofilmes, o que dificulta as opções de tratamento (Chen *et al.*, 2024).

K. pneumoniae está entre os patógenos oportunistas mais comumente isolados de Infecções Relacionadas a Assistência à Saúde (IRAS) e incluída no grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.*), que representam espécies bacterianas de grande interesse clínico devido à sua alta virulência e resistência a diversos antibióticos (Denissen *et al.*, 2022).

A complexidade da resistência de *K. pneumoniae*, é impulsionada principalmente por mecanismos genéticos, incluindo a produção de beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs) e carbapenemases, que conferem resistência a antibióticos como penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos. Além disso, bombas de efluxo, como AcrAB e OqxAB, desempenham um papel crucial ao expulsar antibióticos da célula bacteriana, enquanto mutações em porinas, como OmpK35 e OmpK36, limitam a entrada de antibióticos. Esses mecanismos são ainda mais agravados pela capacidade da *K. pneumoniae* de adquirir e transferir genes de resistência por plasmídeos, permitindo a transferência horizontal de genes entre as bactérias. A variabilidade genética tem revelado, portanto, um alto grau de complexidade no resistoma e no mobiloma, facilitando a propagação da resistência bacteriana (Li *et al.*, 2023).

A descoberta do Teixobactin em 2015 destacou a necessidade urgente de novos tratamentos antibióticos diante do aumento da resistência antimicrobiana. Com a evolução e crescente resistência das bactérias aos antibióticos existentes, o desenvolvimento de novos medicamentos estagnou, evidenciando a urgência por alternativas terapêuticas inovadoras, especialmente aqueles derivados de compostos naturais, como os óleos essenciais. Esses óleos, são compostos por misturas complexas, como monoterpenos e sesquiterpenos, exibem propriedades farmacológicas significativas, incluindo efeitos antibacterianos. Devido à sua natureza lipofílica e baixo peso molecular, eles podem penetrar nas membranas celulares, causando efeitos citotóxicos e inibindo o crescimento bacteriano em vários alvos. Como também, suas

propriedades antibacterianas podem ser potencializadas quando combinados com antibióticos comumente empregados, potencializando assim o efeito terapêutico (Huang *et al.*, 2024).

Eucalyptus staigeriana é uma planta pertencente à família *Myrtaceae*. Os componentes bioativos do seu óleo essencial conferem aroma cítrico peculiar, cujas propriedades aromatizantes e flavorizantes são bastante exploradas pelas indústrias de cosméticos e alimentícia. Em relação à atividade farmacológica, o óleo essencial exhibe notáveis propriedades antimicrobianas, especialmente contra certas bactérias gram-positivas, embora sua eficácia contra cepas Gram-negativas ainda seja limitada.

Sob este aspecto, estudos com o óleo essencial de *E. staigeriana* mostrou atividade antimicrobiana contra *Enterococcus faecalis*, embora tenha eficácia limitada em interromper biofilmes pré-formados dessa cepa e de outras como *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* (Correa *et al.*, 2019). Outros estudos têm demonstrado propriedades antifúngicas do óleo essencial de *E. staigeriana* contra fitopatógenos causadores de doenças fúngicas em folhas de videira e uvas, *Alternaria alternat* e *Plasmopara viticola*, como também efeitos larvicidas contra o *Aedes aegypti* (Cruz *et al.*, 2024; Pedrotti *et al.*, 2022).

Embora o óleo essencial de *E. staigeriana* apresente potencial em algumas aplicações, mas sua eficácia contra *K. pneumoniae* é pouco explorada. Sistemas de entrega inovadores, como nanoemulsões e nanogéis, podem aprimorar significativamente as propriedades antimicrobianas do óleo essencial, melhorando a estabilidade, biodisponibilidade e proteção contra a degradação dos compostos ativos (Kyriakoudi *et al.*, 2021).

As nanoemulsões são dispersões de pequenas gotículas de óleo em água, estabilizadas por surfactantes, que aumentam a solubilidade de compostos lipofílicos e permitem uma liberação controlada. Já os nanoemulgéis são formulações que combinam nanoemulsões com uma base de gel. Esses sistemas inovadores representam uma abordagem promissora no tratamento de infecções bacterianas, especialmente as causadas por patógenos multirresistentes como *K. pneumoniae*. Assim, mais pesquisas se fazem necessárias (Tanuku *et al.*, 2024).

2. OBJETIVOS

2.1 Geral:

Avaliar as atividades antibacterianas do óleo essencial, nanoemulsão e nanoemulgel de *Eucalyptus staigeriana* sobre cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

2.2 Específicos:

Realizar a análise cromatográfica do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*;

Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente às cepas de *Klebsiella pneumoniae*;

Analisar a atividade antiaderente do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente às cepas de *Klebsiella pneumoniae*;

Investigar o efeito da associação do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* com antibacterianos sintéticos sobre às cepas de *Klebsiella pneumoniae*;

Obter e caracterizar nanoemulsão e nanoemulgel contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*;

Realizar o estudo de estabilidade até 90 dias dos sistemas emulsionados (nanoemulsão e nanoemulgel) contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*;

Determinar o potencial antibacteriano da nanoemulsão e nanoemulgel frente às cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 *Klebsiella pneumoniae*: aspectos microbiológicos, virulência e resistência aos antibióticos

Klebsiella é um gênero de bactérias nomeado em homenagem ao bacteriologista alemão Edwin Klebs, pertencente ao filo *Pseudomonadota*, classe *Gammaproteobacteria*, ordem *Enterobacterales* e família *Enterobacteriaceae*. Redefinido por sequenciamento de DNA e análises filogenéticas, o gênero inclui cinco espécies principais: *K. oxytoca*, *K. planticola*, *K. terrigena*, *K. mobilis* e *K. pneumoniae*. Esta última é dividida em três subespécies: *pneumoniae*, *ozaenae* e *rhinoscleromatis*, sendo *K. pneumoniae* a espécie mais frequentemente encontrada, embora análises pan-genômicas recentes sugiram que as subespécies *ozaenae* e *rhinoscleromatis* devam ser consideradas espécies separadas. A espécie-tipo *K. pneumoniae* foi identificada pela primeira vez no ano de 1882 pelo bacteriologista Carl Friedländer. Inicialmente, essa bactéria foi designada como bacilo de Friedländer, contudo, em 1886, passou a ser referenciada por *Klebsiella* (Rahi *et al.*, 2024).

As espécies de *Klebsiella* são onipresentes, encontradas em diversos ambientes, incluindo amostras clínicas de humanos e animais, solo, água e plantas. Embora a maioria dessas espécies seja considerada patógena oportunista, algumas cepas, notadamente as hipervirulentas, como a *K. pneumoniae*, se destacam como verdadeiros patógenos e podem apresentar genes de resistência à antibióticos. Essas cepas têm a capacidade de colonizar o trato gastrointestinal, pele e nasofaringe, ocasionando infecções nosocomiais, como pneumonia, infecções do trato urinário, sepse e infecções em feridas cirúrgicas. Isso ocorre especialmente em populações vulneráveis, como idosos e indivíduos imunocomprometidos (Mahdi, 2024).

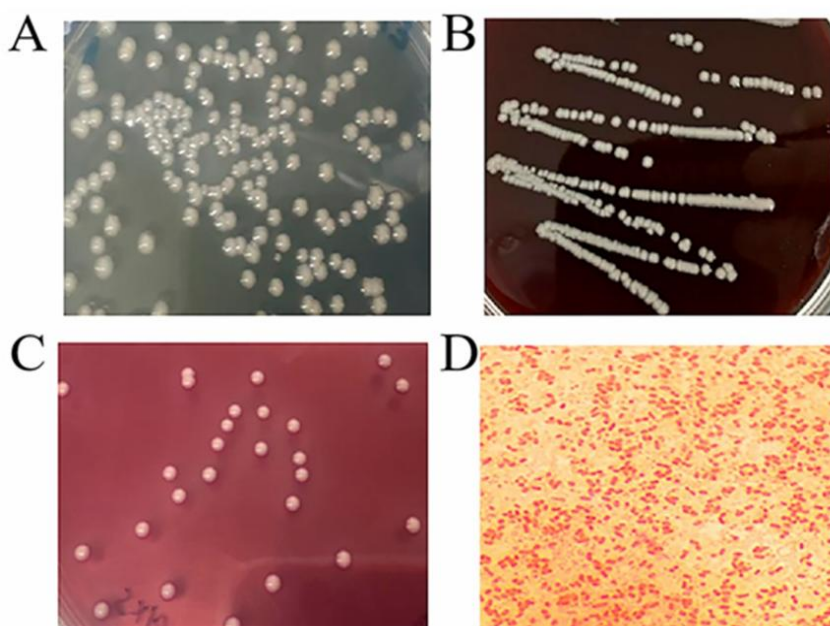
As infecções por *K. pneumoniae* causaram aproximadamente 800.000 mortes em 2019, sendo 80% atribuídas à resistência antimicrobiana (AMR). As principais síndromes infecciosas foram: infecções do trato respiratório inferior, infecções da corrente sanguínea e infecções intra-abdominais; representando quase 90% das mortes relacionadas a KP. O sul da Ásia e a África Subsaariana registaram a maior incidência de mortes, com esta última apresentando o maior número e taxa de óbitos. A resistência aos carbapenêmicos e às cefalosporinas de terceira geração foi responsável por mais de 50%

da mortalidade associada à AMR, especialmente em ambientes com recursos limitados (Brüssow, 2024).

Biologicamente, *K. pneumoniae* é uma bactéria Gram-negativa, caracterizadas com bastonetes retos medindo $0,3-1,0 \times 0,6-6,0 \mu\text{m}$ de comprimento, normalmente não móveis e encapsulados. Sua cápsula polissacarídica é essencial para sua virulência, protegendo-a da fagocitose e dos anticorpos, o que aumenta sua patogenicidade. São mesófilas e anaeróbicas facultativa, exibindo vias metabólicas respiratórias e fermentativas, capaz de gerar energia com ou sem oxigênio, preferindo temperaturas moderadas, a maioria das espécies de *Klebsiella* não cresce em temperaturas abaixo de 10°C ou acima de 45°C (Rahi *et al.*, 2024).

A morfologia das colônias de *K. pneumoniae* pode ser analisada em diferentes meios de cultura. Em TSA (*Tryptic Soy Agar*) as colônias são grandes, redondas, lisas e amarelas, indicando crescimento saudável. No ágar sangue, as colônias são marfim, lisas e sem hemólise. No ágar MacConkey, as colônias se apresentam grandes, rosas e indicam fermentação da lactose. A coloração de Gram revela que o isolado é um bacilo gram-negativo, com permutações em cadeia simples ou curta observadas ao microscópio, confirmando as características fenotípicas de *K. pneumoniae* (Figura 1) (He *et al.*, 2022).

Figura 1. Morfologia das colônias e imagem microscópica da coloração de Gram de *Klebsiella pneumoniae*.



(A) Morfologia das colônias em TSA. (B) Morfologia das colônias em ágar sangue. (C) Morfologia das colônias em ágar MacConkey. (D) Morfologia microscópica da coloração de Gram de *K. pneumoniae*, $100\times$. Fonte: adaptado de Meirong *et al.*, 2022.

K. pneumoniae pode ser identificada através de diversos testes bioquímicos que avaliam suas características metabólicas e enzimáticas. Esta bactéria apresenta uma reação negativa para oxidase e é capaz de fermentar glicose, além de reduzir nitrato e ser positiva para lisina descarboxilase (LDC). No entanto, é negativa para ornitina descarboxilase (ODC) e para a produção de indol. Nos testes de vermelho de metila (MR) e Voges-Proskauer (VP), *K. pneumoniae* mostra resultados positivos, indicando a produção de ácidos mistos e acetoina durante a fermentação da glicose. Adicionalmente, a bactéria é positiva para o teste de malonato, utilizando-o como fonte de carbono, mas não fermenta d-melibiose e l-sorbose (Osman *et al.*, 2020).

Além das características bioquímicas, a identificação genética de *K. pneumoniae* pode ser realizada pela amplificação do gene 16S rRNA utilizando a técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), que envolve o isolamento do DNA, amplificação com primers conservados, visualização em gel de agarose e sequenciamento. Os resultados são comparados com sequências de referência no banco de dados do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) usando a ferramenta BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), onde homologia superior a 99% com cepas de referência confirma a identidade da amostra. A combinação de abordagens genéticas e bioquímicas proporciona uma identificação precisa e confiável, essencial para o diagnóstico clínico e vigilância epidemiológica (Al-masoudi; Al-janabi; Al-mousawi, 2025).

K. pneumoniae apresenta uma variedade de sorotipos que são essenciais para entender sua virulência, resistência aos antimicrobianos e suas implicações clínicas. A sorotipagem identifica variações nos polissacarídeos de superfície, principalmente nos antígenos-O e antígenos-K, utilizando anticorpos específicos. Na *K. pneumoniae*, a diversidade dos antígenos O e K é resultado da composição do lipopolissacarídeo (LPS), onde os antígenos-O estão na parte mais externa e os antígenos-K formam o polissacarídeo da cápsula bacteriana (CPS) (Hasani *et al.*, 2020).

Existem 79 sorotipos capsulares identificados, particularmente os sorotipos K1 e K2, está ligada a infecções graves e altas taxas de mortalidade. Genes como wabG, uge, ycfM, rmpA e wcaG estão envolvidos na produção de cápsulas e resistência à fagocitose, aumentando a patogenicidade da bactéria. O número estimado de sorotipos em relação aos antígenos O é estimado de oito (O1, O2, O3, O4, O5, O12, OL101 e OL104). Porém, um estudo identificou 13 tipos distintos de O, sendo O1/O2v1 e O1/O2v2 os mais prevalentes, representando 44% e 33% dos isolados, respectivamente. Apesar de o sorotipo O auxiliar na identificação de cepas e estar ligado a fatores de virulência, não se

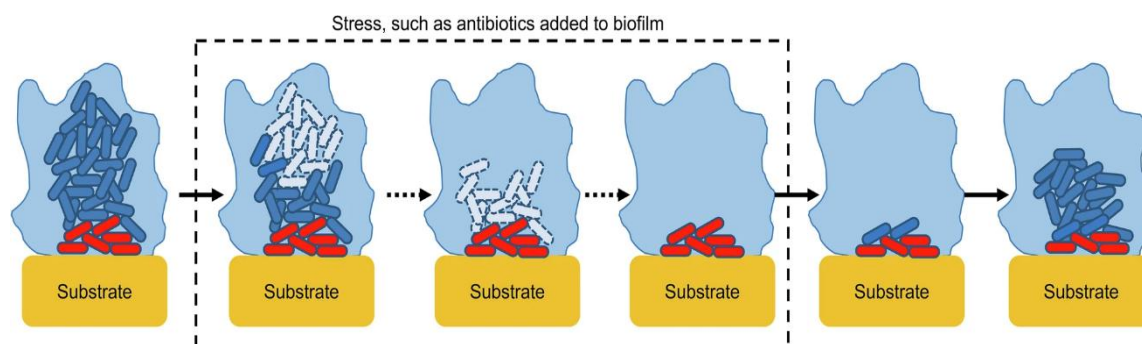
relaciona diretamente com a gravidade da doença. A diversidade de sorotipos O é crucial para entender infecções e desenvolver vacinas específicas (Shamanna *et al.*, 2024).

A *K. pneumoniae* é conhecida por sua resistência a uma ampla gama de antibióticos, incluindo carbapenêmicos e β -lactâmicos. Essa resistência está ligada à formação de biofilmes, à heterorresistência e a genes específicos. Esses fatores impactam a eficácia dos tratamentos, criando um cenário desafiador na luta contra infecções bacterianas (Fadeeva; Nevezhina, 2024).

Os biofilmes oferecem um ambiente protetor que aumenta a sobrevivência bacteriana contra agentes antibacterianos. Eles criam microambientes que alteram a disponibilidade de nutrientes e o pH, favorecendo cepas resistentes e facilitando a transferência de genes de resistência. A matriz extracelular do biofilme, composta por polissacarídeos, proteínas, DNA extracelular (eDNA) e lipídios, cria barreiras físicas que dificultam a absorção de antibióticos. Esses componentes não só impedem a eficácia dos medicamentos, mas também podem se ligar ou degradar os antibióticos, contribuindo para a resistência antimicrobiana (Shakya *et al.*, 2024).

A estrutura dos biofilmes permite a coexistência de bactérias em diferentes estados fisiológicos, desde células ativas até as em estado de dormência. As células metabolicamente ativas dispostas na superfície são eliminadas pelo tratamento com antibióticos, enquanto as células persistentes nas camadas mais profundas sobrevivem devido ao seu estado dormente. Após a eliminação das células ativas, as células persistentes podem repovoar a infecção, contribuindo para a cronicidade das infecções por biofilme. Isso demonstra como a presença de células persistentes pode interferir na eficácia dos tratamentos antibacterianos e perpetuar infecções crônicas (Figura 2) (Shurayfan *et al.*, 2024).

Figura 2. Heterogeneidade da suscetibilidade aos antibióticos das bactérias em biofilmes.



*Células persistentes (vermelho) sobrevivem ao tratamento com antibióticos e repovoam a infecção; Células metabolicamente ativas (azul) são eliminadas. Fonte: adaptado de Shurayfan *et al.*, 2024.

A heterorresistência em *K. pneumoniae* representa um desafio significativo no tratamento de infecções, devido à coexistência de subpopulações suscetíveis e resistentes. Esse fenômeno é impulsionado por três mecanismos principais: a amplificação gênica em tandem, que aumenta o número de cópias de um gene de resistência; a mutação genética, que altera a expressão dos genes de resistência, resultando em níveis variados de suscetibilidade dentro da mesma população; e a regulação epigenética, que envolve modificações que afetam a expressão gênica sem alterar a sequência do DNA, que podem contribuir para a heterorresistência. Essas características complicam as estratégias terapêuticas, uma vez que os testes de suscetibilidade padrão podem não detectar cepas resistentes, levando a falhas no tratamento (Nicoloff *et al.*, 2024).

Os fatores genéticos que contribuem para a resistência bacteriana em *K. pneumoniae* são multifacetados, envolvendo vários genes de resistência, elementos genéticos móveis e mutações específicas. Os principais genes de resistência da *K. pneumoniae* incluem as carbapenemases, como *BlakPC*, *blandM* e *bla_{oxA}*, que são predominantes e associados a altas taxas de resistência. Outro grupo significativo são as beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs), como os genes *blas_{HV}* e *bla_{CTX-M-15}*, que contribuem substancialmente para a resistência contra antibióticos beta-lactâmicos. Como também, a resistência às quinolonas é um problema disseminado, com genes como *q_{NRS1}* e *q_{NRB1}* frequentemente identificados, apontando para uma preocupação crescente nesse aspecto (Meng *et al.*, 2023).

Os elementos genéticos móveis (MGEs), como plasmídeos, transposons e integrons, facilitam a transferência de genes de resistência entre diferentes cepas de bactérias, aumentando sua adaptabilidade e resistência. A plasticidade genômica, evidenciada pela variabilidade no tamanho do genoma, suporta a aquisição desses genes. Esses MGEs são cruciais para a rápida disseminação da resistência em ambientes hospitalares, onde a pressão seletiva pelo uso de antibióticos é alta. Os integrons permitem a captura e expressão de múltiplos cassetes de genes, enquanto os plasmídeos transferem genes por conjugação, levando à coexistência de múltiplos genes de resistência em uma única cepa, tornando-a altamente resistente a vários antibióticos (Wang *et al.*, 2024).

Mutações que levam à perda de porinas da membrana externa contribuem para o aumento da resistência, particularmente aos carbapenêmicos. As porinas são proteínas que facilitam a entrada de moléculas, incluindo antibióticos, na célula bacteriana. Quando essas porinas são perdidas ou alteradas, a bactéria se torna menos permeável aos antibióticos, aumentando a resistência. Além disso, a convergência genotípica em *K.*

pneumoniae é um fator preocupante. A presença simultânea de genes de virulência e resistência demonstra a interconexão dessas características, significando que as bactérias não apenas se tornam mais resistentes aos antibióticos, mas também mais virulentas, aumentando o risco de infecções graves e difíceis de tratar (Samoilova *et al.*, 2024).

Outro aspecto crucial da multirresistência de *K. pneumoniae* envolve os sistemas de degradação enzimática e as bombas de efluxo. As cepas dessa bactéria produzem enzimas, como β -lactamases de espectro estendido, metalo- β -lactamases, oxacilinas e carbapenemases, que degradam antibióticos β -lactâmicos, neutralizando sua ação. Além disso, as bombas de efluxo da família resistência-nodulação-divisão (RND) removem ativamente antibióticos anfífilos e carregados, como β -lactâmicos, fluoroquinolonas e aminoglicosídeos, do interior da célula bacteriana, reduzindo suas concentrações intracelulares e, conseqüentemente, sua eficácia (Albarri *et al.*, 2024).

A combinação desses mecanismos de resistência permite que *K. pneumoniae* sobreviva em ambientes com altas concentrações de antibióticos, dificultando o tratamento das infecções. A Tabela 1 resume esses mecanismos e fatores contribuintes.

Tabela 1. Mecanismos de resistência de *Klebsiella pneumoniae*.

Mecanismo de Resistência	Fatores Contribuintes	Descrição
Biofilmes	Polissacarídeos, proteínas, DNA extracelular (eDNA), lipídios.	Cria barreiras físicas que dificultam a absorção de antibióticos e facilita a transferência de genes de resistência.
Heterorresistência	Amplificação gênica, mutação genética, regulação epigenética	Coexistência de subpopulações suscetíveis e resistentes, dificultando a detecção e tratamento eficaz.
Carbapenemases	blaKPC, blaNDM, blaOXA	Enzimas que degradam carbapenêmicos, levando à resistência.
Beta-lactamases de Espectro Estendido (ESBLs)	blaSHV, blaCTX-M-15	Enzimas que degradam uma ampla gama de antibióticos beta-lactâmicos.
Genes de Resistência às Quinolonas	nrS1, qnrB1	Genes que conferem resistência aos antibióticos quinolonas.

Elementos Genéticos Móveis (MGEs)	Plasmídeos, transposons, integrons	Facilitam a transferência de genes de resistência entre diferentes cepas de bactérias.
Mutações de Porinas	Perda ou alteração de porinas	Reduz a permeabilidade a antibióticos, aumentando a resistência.
Bombas de Efluxo	Bombas de efluxo da família RND	Removem ativamente antibióticos das células bacterianas, reduzindo sua concentração intracelular e eficácia.
Plasticidade Genômica	Variabilidade no tamanho do genoma	Suporta a aquisição de genes de resistência.
Convergência de Virulência e Resistência	Presença simultânea de genes de virulência e resistência	Cepas altamente virulentas e resistentes, tornando as infecções mais difíceis de tratar.

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Diante dessa complexa resistência, são identificadas dois patótipos principais em *K. pneumoniae*: clássico (CKp) e hipervirulento (HVKp). As cepas de HVKp são motivo de grande preocupação, pois apresentam fatores de virulência únicos e crescente resistência aos antibióticos, o que complica ainda mais o tratamento. Essas cepas produzem maior quantidade de cápsulas, que lhes conferem proteção adicional contra o sistema imunológico. Além disso, possuem sistemas sideróforos que facilitam a aquisição de ferro, essencial para o crescimento bacteriano, e tipos específicos de cápsulas, como K1 e K2, que estão associados a uma maior virulência (Li *et al.*, 2024).

No entanto, a maior ameaça vem da capacidade de HVKp adquirir genes de resistência aos carbapenêmicos, resultando no surgimento de cepas Cr-HVKP. Essas cepas combinam virulência aumentada com resistência a antibióticos, tornando-se uma preocupação significativa para a saúde pública devido às opções de tratamento limitadas. A transição de CKp para Cr-HVKP pode ocorrer pela aquisição de plasmídeos híbridos que contêm genes de resistência e virulência. Portanto, entender e diferenciar entre CKp e HVKp no diagnóstico clínico é crucial para um tratamento adequado, destacando a necessidade de desenvolver testes mais abrangentes e específicos (Al ismail *et al.*, 2025).

3.2 Óleos essenciais como produto farmacêutico

A história dos óleos essenciais remonta ao século XVI, quando Paracelsus von Hohenheim introduziu o termo "óleo essencial", estabelecendo sua importância em aplicações medicinais. Eles foram considerados "essenciais" porque se acreditava que podiam capturar a essência do sabor e da fragrância de uma planta, conferindo às plantas seu perfume único. Esses produtos naturais têm sido vitais na medicina tradicional e nas práticas alternativas de cura por séculos, sendo reconhecidos por suas notáveis propriedades terapêuticas desde a Idade Média (Ivanova *et al.*, 2025).

Os óleos essenciais são misturas complexas produzidas por plantas aromáticas como metabólitos secundários. São cruciais para a defesa das plantas, exibindo fortes propriedades antibacterianas, antivirais, antifúngicas e inseticidas. Esses óleos são sintetizados em várias partes da planta, como flores, folhas, frutos e raízes, e armazenados em células secretoras ou tricomas glandulares. Além de suas funções protetoras, os óleos essenciais atraem polinizadores e repelem insetos nocivos (Kumari *et al.*, 2024).

Quimicamente, os óleos essenciais são líquidos voláteis, geralmente incolores, solúveis em solventes orgânicos, com densidade menor que a da água, e contêm de 20 a 60 compostos voláteis, incluindo terpenos e compostos aromáticos. Podem ser obtidos por métodos como enfloração, arraste por vapor d'água, extração com solventes orgânicos, prensagem e extração por CO₂ supercrítico. Apresentam índice de refração, sendo opticamente ativos, propriedades estas utilizadas na identificação e no controle de qualidade desses produtos. Embora o componente principal geralmente seja o responsável pela atividade biológica do óleo essencial, o conjunto de substâncias não deve ser ignorado, pois a sinergia entre elas pode ser significativa (Agrawal *et al.*, 2024).

A padronização da composição dos óleos essenciais, que depende da origem botânica e das condições de cultivo, é fundamental para assegurar a consistência e a eficácia terapêutica. Para isso, métodos analíticos, como a cromatografia gasosa, são utilizados para monitorar a qualidade (Ryazanova *et al.*, 2023).

Os óleos essenciais têm sido utilizados desde a antiguidade para várias aplicações terapêuticas, ganhando reconhecimento na medicina moderna por seus diversos benefícios à saúde. Suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antivirais e antibacterianas, os posicionam como alternativas viáveis às drogas sintéticas, que geralmente trazem efeitos adversos (Nath *et al.*, 2024).

Estudos têm destacado esses benefícios, a atividade anti-inflamatória foi estudada por Freitas e Oliveira (2020), que investigaram os óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare* e *Thymus vulgaris*, mostrando que os mesmos podem inibir a liberação de citocinas pró-inflamatórias. Singh *et al.* (2024) demonstrou que o óleo de canela possui maior atividade de eliminação de radicais livres que os óleos cominho e trigonella. A atividade antioxidante foi atribuída aos seus fitocompostos sinérgicos. Li *et al.* (2024) verificou que o óleo essencial de *Myrtus communis* L. exibiu potente atividade antiviral contra os vírus HCoV-229E e HCoV-OC43, com baixa citotoxicidade, sugerindo seu potencial como remédio natural para coronavírus humanos e futuro agente antiviral. Salaria *et al.* (2023) constatou que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* teve atividade antibacteriana significativa contra cepas clínicas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

No que diz respeito à atividade antibacteriana, esta resulta da natureza hidrofóbica dos óleos essenciais, cujo principal alvo são as membranas celulares. Esses óleos se acumulam na bicamada lipídica através de um coeficiente de partição específico para cada composto aplicado, causando danos à estrutura e comprometendo a função da membrana. Para as bactérias Gram-positivas, a bicamada de fosfolipídios é danificada pelos óleos essenciais, o que aumenta a permeabilidade da membrana e pode levar à morte celular. Esse efeito está frequentemente associado à produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a danos no DNA. Por outro lado, as bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos, o que dificulta a entrada de compostos solúveis em lipídios. Mesmo assim, danos podem ser causados pelos óleos essenciais através de proteínas chamadas porinas, que permitem a entrada de pequenas moléculas no espaço entre as membranas (Valdez-lara *et al.*, 2024).

A demanda por óleos essenciais está em ascensão, respaldada por pesquisas que comprovam sua eficácia e segurança. Em 2023, o mercado global de óleos essenciais e aromaterapia foi de US\$ 12,1 bilhões, com projeções de atingir US\$ 17,21 bilhões até 2032. De acordo com dados da Comtrade (*United Nations Commodity Trade Statistics Database*), os maiores consumidores de óleos essenciais no mundo são os EUA (40%) e a União Europeia (30%), sendo a França o país líder em importações. Os principais países exportadores de óleos essenciais são os Estados Unidos, China, Índia, França e Brasil. O Brasil destaca-se como o maior produtor e exportador de óleo essencial de laranja, consolidando sua posição de liderança nesse mercado (Business Research Insights, 2023).

Em 2018, os principais óleos essenciais comercializados globalmente no mercado internacional foram: Laranja (*Citrus sinensis* (L.) (50.000-55.000 toneladas), menta japonesa (*Mentha arvensis* L.) (25.000-40.000 toneladas), eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.) (5.000-11.000 toneladas), limão siciliano (*Citrus limon* (L.) (7.000-7.500 toneladas), hortelã-pimenta (*Mentha x piperita* L.) (4.000-4.500 toneladas), cravo, folhas (*Syzygium aromaticum* (L.) (2.500-4.000 toneladas), menta (*Mentha spicata* L.) (2.000-3.700 toneladas), cedro da Virgínia (*Juniperus virginiana* L.) (2.000-3.500 toneladas) e citronela (*Cymbopogon winterianus*) (1.500-3.000 toneladas). Esses óleos são utilizados principalmente em bebidas, aromatizantes, medicamentos, higiene oral e fragrâncias (Bizzo; Rezende, 2022).

Apesar da popularidade e ampla utilização dos óleos essenciais, o uso desses compostos em produtos farmacêuticos enfrenta desafios consideráveis, principalmente devido à sua hidrofobicidade, volatilidade e suscetibilidade à oxidação. Essas propriedades dificultam a incorporação dos óleos essenciais em formulações aquosas, o que leva à rápida evaporação e redução da eficácia terapêutica. Para superar esses obstáculos, avanços recentes em sistemas de entrega de medicamentos, como nanoemulsões e nanogéis, têm surgido como soluções eficazes. Esses sistemas facilitam a liberação controlada e melhoram a biodisponibilidade, abordando as limitações inerentes aos óleos essenciais, aumentando a estabilidade e eficácia terapêutica desses compostos (Omidian *et al.*, 2025).

3.3 *Eucalipto staigeriana*

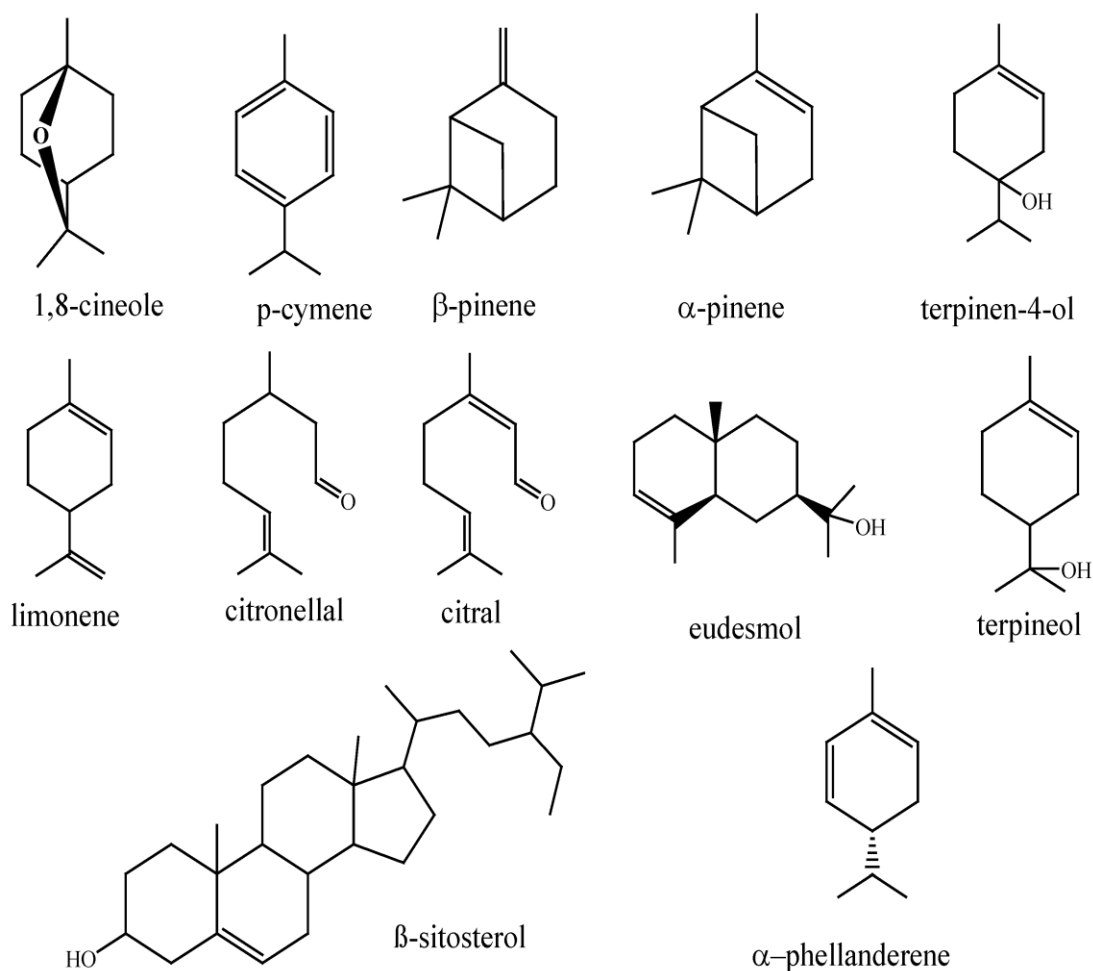
O nome *Eucalyptus* deriva do grego eu, que significa "bem", e kalyptós, que significa "coberto". Esta denominação refere-se à estrutura globular arredondada de seu fruto, que protege bem as sementes e esconde o botão floral em seu interior. O gênero *Eucalyptus* (Myrtaceae) abrange mais de 900 espécies, sendo fontes importantes de óleos essenciais, que podem ser extraídos de diversas partes da planta, como frutos, galhos e folhas. No Brasil, espécies de *Eucalyptus* foram introduzidas com o objetivo de serem cultivadas como fonte de matéria-prima para a produção de papel, celulose, madeira para serraria e carvão vegetal (Santos, 2021).

Os eucaliptos não são apenas valiosos para suas aplicações industriais, mas também desempenham um papel crucial na medicina tradicional e na aromaterapia. Os óleos essenciais derivados do eucalipto exibem uma série de propriedades terapêuticas,

incluindo efeitos antimicrobianos, anti-inflamatórios e expectorantes, tornando-os eficazes no tratamento de problemas respiratórios, como bronquite e asma. Além disso, as florestas de eucalipto contribuem significativamente para a saúde ecológica, evitando a erosão do solo e preservando a biodiversidade (Amorim *et al.*, 2021; El Shiekh *et al.*, 2025).

As folhas de eucalipto são a principal fonte de óleos essenciais, que são combinações complexas de fitoquímicos benéficos, incluindo 1,8-cineol, p-cimeno, α e β -pineno, limoneno, citronelal, citral, eudesmol, terpinen-4-ol, terpineol, α -felandreno e β -sitosterol, que contribuem para seus aromas distintos, Figura 3 (Moges *et al.*, 2024).

Figura 3. Estruturas químicas dos principais componentes dos óleos essenciais de eucalipto.



Fonte: Moges *et al.*, 2024.

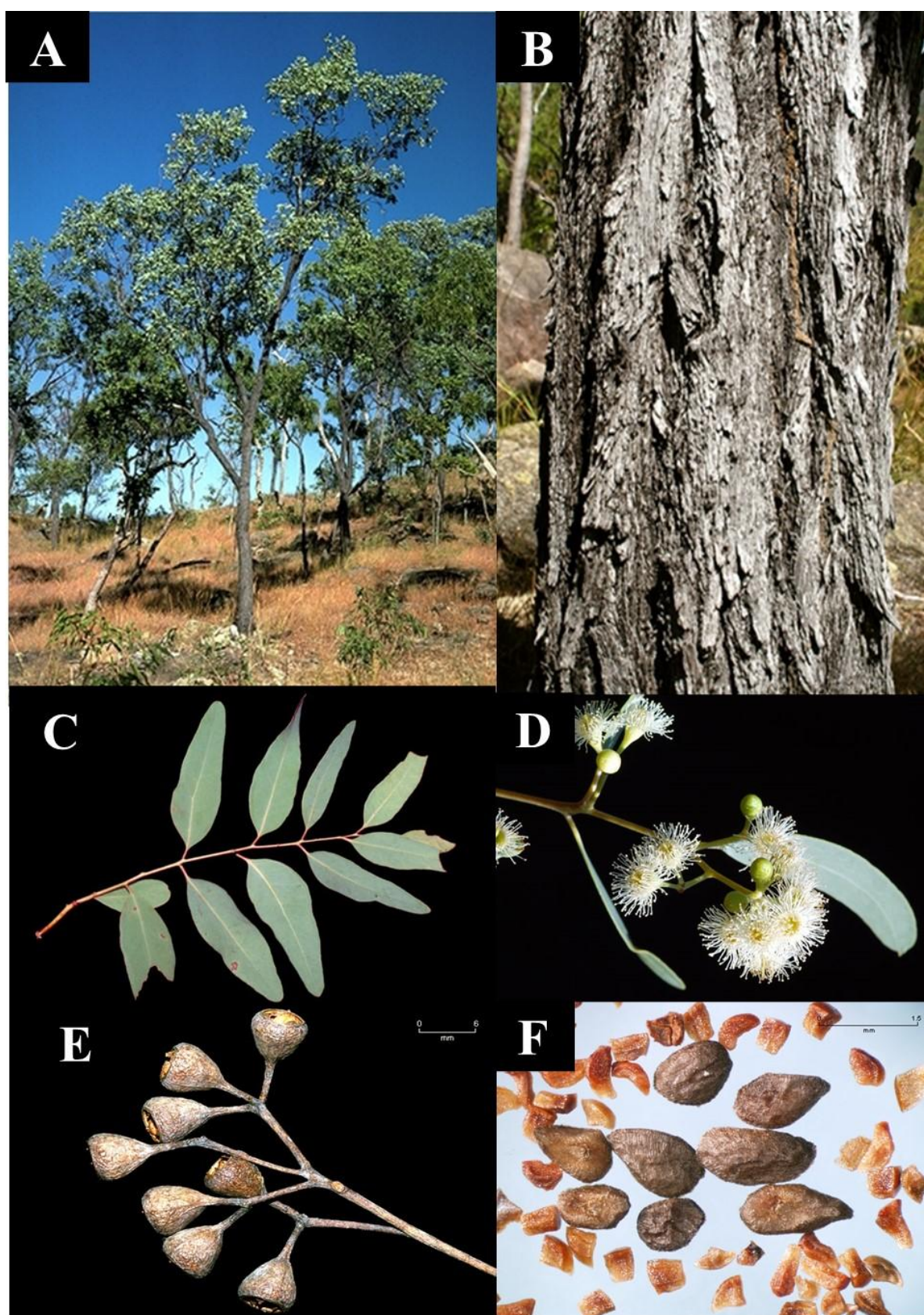
Os óleos essenciais podem ser extraídos por diferentes métodos como hidrodestilação, extração com fluido supercrítico e extração por solvente, cada um com

suas próprias vantagens e características. São aplicados em diversas áreas, como caracterização taxonômica de populações, com base nos perfis químicos dos quimiotipos, além de usos industriais nos setores farmacêutico, agroquímico, alimentício e de fragrâncias. As principais espécies de *Eucalyptus* utilizadas para a produção de óleos essenciais são *E. staigeriana*, *E. citriodora* e *E. globulus* (Vitti; Brito, 2003; Rafiq *et al.*, 2024).

As espécies de *Eucalyptus* usadas para fins terapêuticos apresentam 1,8-cineol como componente majoritário, como encontrado no *Eucalyptus globulus*, que contribui para suas poderosas capacidades terapêuticas, sendo utilizado como expectorante e anti-inflamatório em tratamentos respiratórios. *E. citriodora* é valorizado principalmente por suas qualidades repelentes de insetos, devido aos altos níveis de citronelal. Esta espécie encontra aplicações em perfumaria e cosméticos, além de ser usada na aromaterapia para relaxamento e alívio do estresse. *E. staigeriana* é conhecida por seu aroma revigorante, sendo frequentemente empregada na aromaterapia para aliviar o estresse e a ansiedade. Além disso, contém compostos que podem oferecer benefícios antimicrobianos. Suas folhas apresentam um cheiro cítrico característico, proveniente da mistura de neral e geranial (cital), com rendimento de óleo variando de 1,2 a 1,5% e teor de citral entre 16 e 40% (El-Shiekh *et al.*, 2025).

Eucalyptus staigeriana, conhecido como eucalipto-limão, é uma árvore perene nativa do norte de Queensland, Austrália, cujo nome homenageia o químico analítico Karl Theodore Staiger. Esta espécie pode atingir até 12 metros, sendo reconhecida por sua adaptabilidade e características botânicas distintas. As folhas são lanceoladas, de verde brilhante, dispostas alternadamente ao longo do caule, favorecendo a fotossíntese e contribuindo para seu valor estético. Elas produzem um óleo essencial de aroma cítrico, amplamente utilizado na perfumaria, aromaterapia e produtos de limpeza. A casca da árvore é lisa, variando em tonalidades de cinza a marrom, frequentemente se desprendendo em tiras finas. As flores, que vão do branco ao creme, atraem polinizadores como abelhas, desempenhando um papel crucial na biodiversidade local. Os frutos são cápsulas lenhosas que facilitam a dispersão das sementes, contribuindo para a regeneração das florestas. Além de seu valor ecológico, o *Eucalyptus staigeriana* é valorizado por sua resistência a condições climáticas adversas e capacidade de crescer em solos pobres, apresentando alta adaptabilidade às condições áridas, tornando-o adequado para o cultivo em regiões semiáridas, sendo uma excelente escolha para reflorestamento e recuperação de áreas degradadas, Figura 4 (Cabi, 2017).

Figura 4. Aspectos botânicos do *Eucalyptus staigeriana*.



(A) Árvore; (B) Caule e casca; (C) Folhas; (D) Flores; (E) Frutos; (F) Sementes.
Fonte: adaptado de Canbr, 2020.

Para o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, outras propriedades farmacológicas foram relatadas na literatura. Estudos demonstraram sua atividade antifúngica *in vitro* contra patógenos como *Colletotrichum gloeosporioides* e *Greeneria uvicola*, com efeito fungicida nas concentrações de 1,0 e 0,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$, respectivamente (Pedrotti *et al.*, 2022). Em tratamentos pós-colheita, o óleo reduziu a incidência de podridão madura em até 75% e a podridão amarga em 54%, e sua eficácia também se estendeu ao controle de *Botrytis cinerea* e *Rhizopus stolonifer* em morangos (Silva *et al.*, 2020). Além disso, o óleo essencial encapsulado de *Eucalyptus staigeriana* mostrou uma eficácia de 60,79% contra nematóides gastrointestinais em ovinos, com uma eficácia particular de 83,75% contra nematóides abomasais (Mesquita *et al.*, 2013). Já com relação à atividade antibacteriana, o óleo essencial das folhas secas de *Eucalyptus staigeriana* exibiu atividade antimicrobiana especificamente contra bactérias gram-positivas, incluindo *Enterococcus faecalis* resistente e multirresistente, com concentrações inibitórias mínimas variando de 3,12% a 6,25%, demonstrando potencial como agente antibacteriano (Corrêa *et al.*, 2019). Outros estudos relataram efeitos antibacterianos significativos contra patógenos como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, com valores de MIC tão baixos quanto 0,25 mg/mL (Abiodun *et al.*, 2024).

Além das propriedades antifúngicas e antibacterianas, o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* tem sido investigado por suas atividades anti-inflamatórias e antioxidantes. Pesquisas indicam que os componentes do óleo podem reduzir significativamente a produção de mediadores inflamatórios, como prostaglandinas e citocinas, sugerindo seu potencial uso no tratamento de doenças inflamatórias (Salvatori *et al.*, 2023). Também, os antioxidantes presentes no óleo essencial são capazes de neutralizar radicais livres, contribuindo para a proteção celular contra danos oxidativos (Barbosa *et al.*, 2019). Estas descobertas ampliam ainda mais as possíveis aplicações terapêuticas do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, consolidando-o como uma promissora ferramenta na medicina natural e na indústria farmacêutica.

3.4 Nanoformulações

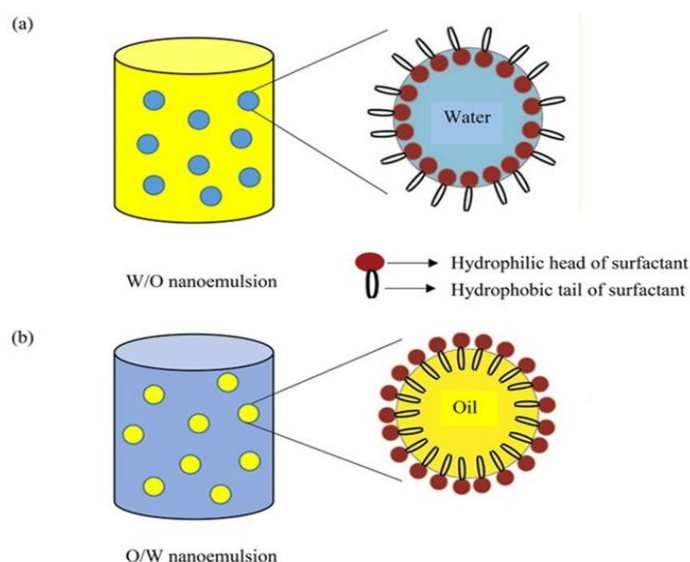
A nanotecnologia envolve a formulação de materiais na nanoescala (0,1 a 1000 nanômetros), onde os mesmos apresentam propriedades físicas e químicas únicas e altamente eficientes, tornando-os particularmente adequados para aplicações médicas. Na administração de medicamentos, a nanotecnologia aprimora as propriedades das

substâncias, resultando em maior biodisponibilidade, solubilidade e liberação controlada de fármacos. Tal abordagem constitui uma alternativa promissora para o desenvolvimento de sistemas terapêuticos mais eficazes, com baixa toxicidade, reduzidos efeitos adversos e dosagens menores. Além disso, assegura a proteção do fármaco contra instabilidades no organismo, garantindo níveis plasmáticos constantes (Bezerra, *et al.*, 2022).

Dentre os nanossistemas, as nanoemulsões têm emergido como sistemas versáteis para a veiculação de drogas hidrofóbicas, oferecendo maior solubilidade, dissolução, absorção, permeação e biodisponibilidade, devido às suas gotículas nanométricas e extensa área interfacial. A formulação consiste em uma combinação de vários componentes, como óleo, que serve como fase hidrofóbica, e água, que atua como fase contínua. Emulsificantes e surfactantes estabilizam a emulsão, reduzindo a tensão interfacial, enquanto os cosurfactantes aumentam essa estabilidade. As nanoemulsões são caracterizadas por seu pequeno tamanho de gotícula, abaixo de 100 nm, embora o termo também se aplique a emulsões com gotículas entre 100 e 200 nm. Elas são aplicáveis em diversas vias de administração, como oral, parenteral e tópica, destacando-se na adaptabilidade na entrega de agentes imunoterapêuticos, quimioterápicos e veiculação de produtos naturais (Amiri-rigi, Abbasi e Emmambux, 2022).

As nanoemulsões podem ser classificadas em dois tipos principais com base em seu arranjo de fases óleo-água: nanoemulsões de óleo em água (O/W) e água em óleo (W/O). As nanoemulsões O/W consistem em gotículas de óleo dispersas em uma fase aquosa contínua, o que é particularmente vantajoso para aumentar a solubilidade e a biodisponibilidade de ingredientes ativos hidrofóbicos em aplicações farmacêuticas, permitindo uma entrega mais eficaz do medicamento. Por outro lado, as nanoemulsões W/O apresentam gotículas de água dispersas em uma fase oleosa, proporcionando um ambiente protetor para componentes solúveis em água, o que é benéfico em formulações cosméticas e alimentícias para evitar a degradação dos ingredientes e aumentar a estabilidade. A escolha entre esses dois tipos depende da aplicação específica e da natureza dos ingredientes ativos, destacando a importância de se compreender suas propriedades distintas para otimizar os sistemas de liberação de medicamentos e outras aplicações em nanomedicina (Figura 5) (Romes *et al.*, 2021).

Figura 5. Tipos de nanoemulsões.



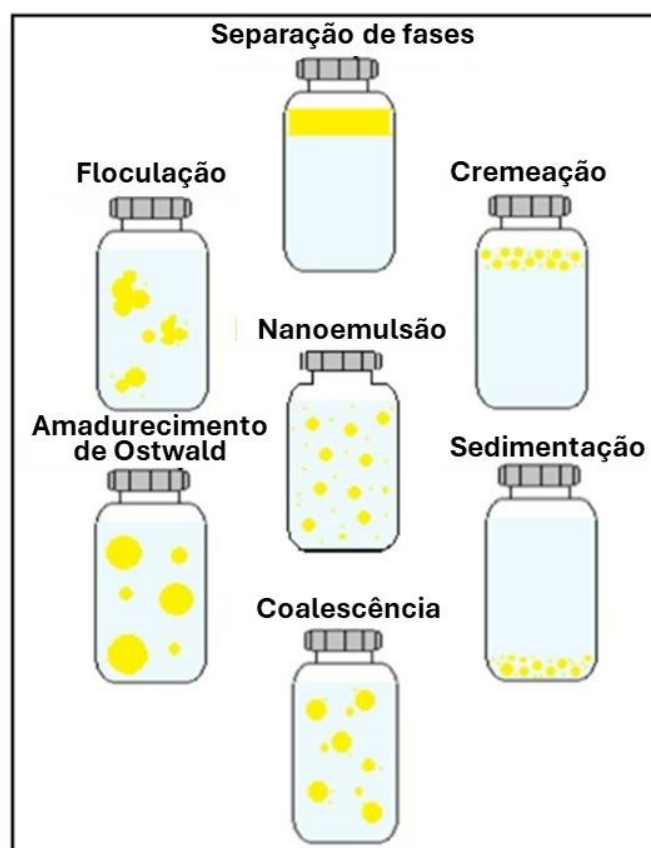
(a) Nanoemulsão água-em-óleo (W/O) e (b) nanoemulsão óleo-em-água (O/W).
Fonte: adaptado de Romes *et al*, 2021.

Os métodos de preparação das nanoemulsões podem ser categorizados em técnicas de alta e baixa energia, cada uma influenciando a estabilidade e as características do produto. Alguns métodos de alta energia incluem a homogeneização à alta pressão, sonicação e microfluidização. A homogeneização à alta pressão consiste na passagem de uma dispersão por uma abertura estreita sob alta pressão, em turbulência intensa, resultando na formação de gotículas menores e mais estáveis. A sonicação, bem estabelecida em escala laboratorial, utiliza vibrações ultrassônicas intensas produzindo ondas interfaciais instáveis que rompe as gotículas primárias em gotículas de tamanho nanométrico, enquanto a microfluidização baseia-se na utilização de uma bomba que força a passagem da emulsão através de uma série de microcanais. Por outro lado, os métodos de baixa energia dependem das propriedades naturais dos componentes para formar nanoemulsões sem a necessidade de energia excessiva. Isso inclui a composição de inversão de fase (PIC), que envolve o ajuste das proporções de óleo e água até o ponto em que o sistema forma espontaneamente nanoemulsões, e a temperatura de inversão de fase (PIT), onde o aquecimento da emulsão a uma temperatura específica provoca a inversão das fases, levando à formação de nanoemulsões (Hadžiabdić *et al.*, 2017).

No processo de preparo, os sistemas de nanoemulsão podem experimentar vários tipos de instabilidade resultantes de processos físicos, o que leva a desafios na manutenção das propriedades desejadas. A desestabilização física ocorre devido à

tendência espontânea de reduzir a área interfacial entre suas fases imiscíveis. Entre os processos de instabilidade, a formação de creme (creaming), mais comum em nanoemulsões óleo-em-água (O/W), ocorre devido à diferença de densidade entre os componentes e forças externas, como a gravidade, formando uma camada cremosa na superfície. Por outro lado, a sedimentação, prevalente em nanoemulsões água-em-óleo (W/O), resulta da diferença de densidade dos materiais e da baixa solubilidade em meio aquoso, levando as gotículas a se sedimentarem no fundo. A coalescência envolve a fusão de gotículas menores em maiores, potencialmente causando a separação total das fases da emulsão. A floculação refere-se à agregação de gotículas de óleo sem fusão, o que pode eventualmente levar à coalescência e à desestabilização da emulsão. O amadurecimento de Ostwald descreve o aumento do tamanho das gotículas maiores à custa das menores, resultando na diminuição do número total de gotículas dispersas e na possível separação das fases (Figura 6) (Prado *et al.*, 2024).

Figura 6. Diferentes tipos de instabilidade que podem ocorrer em sistemas de nanoemulsões.



Fonte: adaptado de Prado *et al.*, 2024.

A caracterização de gotículas em nanoemulsões é crucial para otimizar sua funcionalidade, estabilidade e eficácia terapêutica. Parâmetros como tamanho de gotícula, potencial zeta e índice de polidispersão, influenciam significativamente a biodisponibilidade e o desempenho dos sistemas de administração de fármacos (Nagar *et al.*, 2025).

As nanoemulsões, com tamanhos de gotículas normalmente entre 20 e 100 nm, exibem maior estabilidade física e desempenho, particularmente quando diâmetros de gotículas menores são alcançados. Os aspectos qualitativos e quantitativos da formulação, como a concentração de óleo e os tipos de surfactante, influenciam significativamente o tamanho das gotículas. Um aumento de apenas 10% na concentração de óleo pode levar a aumentos substanciais no diâmetro das gotículas, afetando a estabilidade e a eficácia. Várias técnicas de caracterização, incluindo dispersão dinâmica de luz e microscopia eletrônica, são essenciais para medir o tamanho das gotículas com precisão (Chauhan *et al.*, 2024).

O potencial zeta é crucial na estabilidade das nanoemulsões, refletindo a carga elétrica nas superfícies das gotículas. Valores mais altos indicam maior repulsão eletrostática, evitando agregação e coalescência, e resultando em nanoemulsões mais estáveis. Avanços nas técnicas de medição, como chips microfluídicos, aumentam a acessibilidade e a reprodutibilidade das medições do potencial zeta, facilitando melhores avaliações da estabilidade (Cottet *et al.*, 2023).

O índice de polidispersão (PDI) é um parâmetro crítico na avaliação da uniformidade do tamanho das gotículas em nanoemulsões. Um valor de PDI mais baixo sugere uma distribuição de tamanho mais uniforme, enquanto um valor mais alto indica uma faixa mais ampla de tamanhos de gotículas. Geralmente, um PDI baixo ($<0,3$) é desejável, pois implica que a nanoemulsão tem um tamanho de gotícula consistente, o que pode aumentar sua eficácia em aplicações como a administração de medicamentos. O PDI é medido utilizando técnicas de espalhamento dinâmico de luz (DLS), que analisam o espalhamento da luz por partículas em suspensão. Esse método fornece informações sobre a distribuição de tamanho das gotículas, permitindo o cálculo do PDI (Thakur *et al.*, 2012).

A estabilidade e o desempenho das nanoemulsões também são significativamente influenciados por uma variedade de fatores externos. Entre esses, a temperatura e o pH desempenham papéis críticos na modulação das características físico-químicas das nanoemulsões. Adicionalmente, a determinação precisa do equilíbrio hidrofílico-

lipofílico (EHL) é fundamental para obter uma formulação ideal e a eficiência dessas estruturas coloidais (Smejkal *et al.*, 2024).

Com relação à temperatura, as nanoemulsões podem exibir estabilidade variável em diferentes temperaturas, que podem afetar sua eficácia. Temperaturas mais altas podem levar ao aumento do movimento molecular, potencialmente causando a coalescência das gotícula, o que pode desestabilizar a formulação. Por outro lado, em temperaturas muito baixas, pode acontecer a cristalização dos componentes, gerando instabilidade física e modificando as propriedades funcionais da nanoemulsão. A escolha de surfactantes e técnicas de formulação pode mitigar esses efeitos, garantindo estabilidade em uma faixa de temperaturas (Summerton *et al.*, 2017).

O pH da formulação também exerce uma influência significativa na estabilidade das nanoemulsões, afetando a carga e a solubilidade dos surfactantes e estabilizadores. Um pH apropriado aumenta a repulsão eletrostática entre as gotículas, reduzindo a coalescência e melhorando a estabilidade. Diferentes surfactantes possuem faixas de pH ideais para emulsificação eficaz; em certos níveis, esses surfactantes podem se tornar menos eficazes, resultando em instabilidade, creme ou sedimentação. Além disso, o pH pode influenciar a solubilidade dos ingredientes farmacêuticos ativos nas nanoemulsões, impactando a biodisponibilidade dos medicamentos. Durante a caracterização de nanoemulsões, o pH é um parâmetro crítico a ser monitorado, pois alterações podem modificar o tamanho e a distribuição das gotículas, essenciais para avaliar a qualidade e o desempenho das nanoemulsões. O pH também determina a adequação das nanoemulsões para diferentes vias de administração, como tópica ou parenteral, sendo necessário um pH compatível com a fisiologia do local de administração para evitar irritações (Siddi *et al.*, 2021).

O equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL) é fundamental para determinar as propriedades de solubilidade e emulsificação dos surfactantes. Ele diferencia entre emulsões água em óleo (W/O) e óleo em água (O/W), com valores baixos de necessários para W/O e valores altos para O/W, essenciais para formulações estáveis. O sistema EHL simplifica a seleção de surfactantes, permitindo escolher aqueles que estabilizam eficazmente a emulsão. Apesar de fornecer uma diretriz, a estrutura química dos surfactantes também é crucial, pois surfactantes com o mesmo EHL podem não funcionar igualmente bem devido a variações na composição química. Portanto, é importante avaliar diferentes surfactantes com o EHL necessário. Para surfactantes não padronizados, os valores de EHL devem ser determinados experimentalmente,

destacando a importância de testes completos. Além disso, os valores de EHL são aditivos, permitindo calcular o EHL geral como uma média ponderada quando vários surfactantes ou óleos estão presentes, possibilitando formulações mais complexas e ajustáveis (Smejkal *et al.*, 2024).

Outro sistema de entrega de fácil aplicação que utiliza nanoemulsões com óleos essenciais como base é o nanoemulgel. Esta tecnologia híbrida combina nanoemulsão e uma fase de gelificação, aumentando a bioadesividade dos óleos essenciais e minimizando seus efeitos irritantes. Essa formulação é particularmente benéfica para aplicações tópicas na indústria cosmecêutica, oferecendo várias propriedades funcionais (Yap *et al.*, 2024).

Os nanogéis derivados de nanoemulsões contendo óleos essenciais apresentam uma penetração aprimorada na pele devido às gotículas submicrônicas, que facilitam uma absorção mais profunda nas camadas cutâneas e superam as limitações das formulações tradicionais. A incorporação de óleos essenciais aumenta ainda mais essa penetração, permitindo uma melhor absorção dos agentes terapêuticos. Além disso, os nanogéis demonstram estabilidade superior em comparação aos géis convencionais, preservando suas propriedades físico-químicas ao longo do tempo. Com uma eficiência de encapsulamento de ingredientes ativos que pode exceder 95%, esses sistemas garantem um efeito terapêutico consistente. O mecanismo de liberação controlada dos nanogéis permite a entrega direcionada a regiões específicas da pele, minimizando a exposição sistêmica e os possíveis efeitos colaterais, além de reduzir a frequência de aplicação, o que aumenta a adesão do paciente (Rajput *et al.*, 2019).

No entanto, apesar dos benefícios significativos, é essencial considerar os desafios relacionados às avaliações de segurança e às aprovações regulatórias necessárias para a introdução de novas formulações no mercado. Essas etapas podem ser extensas e demoradas, o que pode retardar a aplicação clínica desses sistemas inovadores. Ademais, é necessário garantir que as novas tecnologias sejam seguras e eficazes para os consumidores, exigindo testes rigorosos e a conformidade com regulamentações específicas. Esses desafios sublinham a importância de uma abordagem cuidadosa e metódica no desenvolvimento de novos sistemas bioativos baseados em nanotecnologia, assegurando que os benefícios dos óleos essenciais, nanoemulsões e nanogéis possam ser plenamente realizados de maneira segura e eficaz (Chowdhury *et al.*, 2024).

4. MATERIAL E MÉTODOS

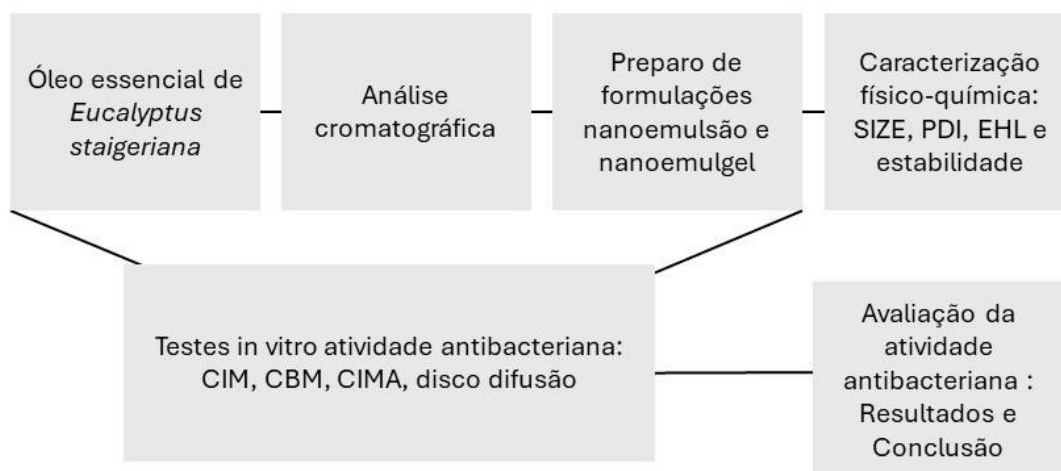
4.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo de natureza aplicada, com delineamento experimental e abordagem quantitativa, desenvolvido *in vitro*, em ambiente laboratorial. Esse tipo de estudo tem como finalidade gerar conhecimentos voltados para a solução de problemas específicos, com aplicação prática, especialmente na inovação tecnológica de produtos e processos, por meio da manipulação de variáveis independentes, sob controle rigoroso das condições, a fim de observar seus efeitos sobre as variáveis dependentes (Pereira *et al.*, 2021). O estudo investigou a atividade antimicrobiana do óleo essencial, nanoemulsão e nanoemulgel de *Eucalyptus staigeriana* sobre *Klebsiella pneumoniae*, visando desenvolver sistemas nanoemulsionados para potencializar compostos naturais, seguindo protocolos microbiológicos, físico-químicos e de estabilidade.

4.2 Desenho metodológico

O delineamento experimental para realização dos testes encontra-se detalhado no esquema abaixo, Figura 7.

Figura 7. Desenho metodológico do estudo



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

4.3 Substância teste e local dos ensaios laboratoriais

A substância teste, óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, foi adquirido da empresa Terra Flor Aromaterapia (Cerrado Essencial LTDA, Brasília, Distrito Federal).

As análises de Cromatografia Gasosa acoplada ao detector por Espectrometria de Massas (CG-MS), para identificação dos principais componentes químicos do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, foram realizadas no Laboratório de Farmacotécnica da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB.

Os testes de avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* e sistemas emulsionados, foram executados no Laboratório de Ensaios Toxicológicos do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba (LABETOX-IpeFarM-UFPB).

Os ensaios para produção dos sistemas emulsionados, nanoemulsão e nanoemulgel, contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, foram conduzidos no Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas da Universidade Estadual da Paraíba (LSVM-UEPB).

4.4 Meio de cultura e micro-organismos

Os meios de cultura utilizados nos ensaios para avaliação da atividade antimicrobiana foram o meio líquido Muller Hinton (MH) e meio sólido Ágar Muller Hinton (AMH), adquiridos na Difco®, e preparados de acordo com as instruções do fabricante.

Foram utilizadas cepas de *Klebsiella pneumoniae* (Kp), sendo uma cepa padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC 13883) e quatro clínicas (Kp 101, Kp 103, Kp 105 e Kp 110), das quais foram mantidas em meio Ágar Muller Hinton (AMH) a uma temperatura de 4 °C. Os inóculos dos micro-organismos foram obtidos a partir de culturas overnight em MH a 37°C, onde as mesmas, foram diluídas em solução salina estéril para obter uma concentração final de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL), ajustados à turbidez padrão (Escala Mcfarland - de 0,5), obtida pela mistura gradual de uma solução de cloreto de bário e solução de ácido sulfúrico (Bona *et al.*, 2014).

4.5 Análise cromatográfica do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*

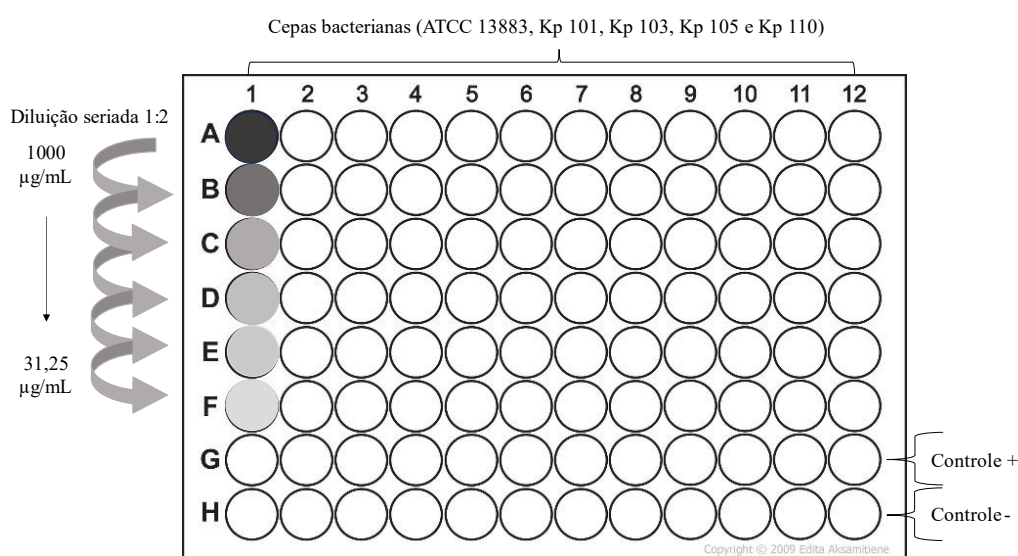
A análise da composição química do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* foi realizada através de um Cromatógrafo a gás acoplado ao Espectrômetro de Massas quadrupolar (CG-ES), Shimadzu modelo GC-QP2010 (Shimadzu, Kyoto, Japão), sendo utilizada uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30m x 0,25mm d.i. x 0,25µm). As condições cromatográficas utilizadas foram: injetor a 220 °C e razão de split 1:10 (3,0 min), gás de arraste He a 0,6 mL/min, temperatura da interface a 250 °C e fonte de ionização por elétrons (35-350 m/z), rampa de temperatura do forno: 40 °C (2 min), com incremento de 3 °C/min até 240 °C por 5 min e volume injetado de 1 µL (1% de solução em diclorometano). A identificação dos compostos foi realizada por comparação dos seus padrões de fragmentações com os espectros de massas da base de dados NIST 14 (Mass Spectral Library, 2014) presente no CG-ES; também pela comparação destes com os dados da literatura (Adams, 2007), e através de seus índices de retenção linear (IRL), calculados em relação aos tempos de retenção de uma série homóloga de hidrocarbonetos (C8 a C26) injetada nas mesmas condições da amostra. O índice de retenção linear foi baseado em Van den Dool e Kratz (1963) e Adams (2007). Para a identificação por comparação com espectros disponíveis nestas bases de dados foram consideradas apenas correspondências acima de 90% (Van den dool; Kratz, 1963; Adams, 2007).

4.6 Avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* contra às cepas de *Klebsiella pneumoniae*

A Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente às cepas de *Klebsiella pneumoniae*, foi obtida utilizando a técnica de microdiluição em placa de 96 poços com fundo em “U”. Em uma placa de 96 cavidades, foi adicionado 100 µL caldo MH, duplamente concentrado, e 100 µL da substância teste, nas concentrações de 1000 a 31,5 µg/mL. A determinação da CIM foi conduzida com 10 µL do micro-organismo em cada cavidade. Foi preparado também o controle de crescimento no penúltimo poço, contendo 200 µL do caldo e a suspensão de micro-organismo, e no último poço, o controle negativo com apenas 200 µL do caldo. Os ensaios foram realizados em duplicata, e as placas incubadas a 35-37°C durante 24 horas. Após este tempo, foi realizada a leitura dos resultados por meio da adição de 20 µL de

solução de resazurina sódica (SIGMA), diluída em água destilada esterilizada na concentração de 0,01 % (p/v), reconhecido como indicador colorimétrico de óxido-redução para bactérias. Portanto, a CIM do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, foi determinada como a menor concentração do produto capaz de inibir o crescimento do micro-organismo ensaiado, verificado por uma não mudança da coloração do corante indicador (Figura 8) (Palomino *et al.*, 2002; Ostrosky *et al.*, 2008; Clsi, 2012; Bona *et al.*, 2014).

Figura 8. Esquema de microdiluição em placas de 96 poços.



Fonte: Acervo próprio.

Nota: Controle + (caldo com micro-organismo)

Controle - (caldo)

4.7 Avaliação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* contra às cepas de *Klebsiella pneumoniae*

Após a leitura dos resultados da CIM do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, foram transferidos um volume de 10 µL do inóculo de três diluições a partir da CIM, ou seja, dos poços que não houve crescimento bacteriano, para o meio de caldo MH (100 µL/cavidade), previamente disposto em placa de microdiluição esterilizada. As placas foram incubadas a 35-37°C por 24 horas, a fim de determinar a Concentração Bactericida Mínima (CBM). Após este tempo, para a leitura dos resultados, foram adicionados 20 µL de resazurina. Os ensaios foram novamente incubados a temperatura de 35-37°C por

mais 24 horas, para a confirmação da concentração capaz de inibir o crescimento total do micro-organismo ensaiado, verificado por uma não mudança da coloração do corante indicador (Ncube *et al.*, 2008; Guerra *et al.*, 2012).

4.8 Avaliação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* contra às cepas de *Klebsiella pneumoniae*

A Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente às cepas de *Klebsiella pneumoniae*, foi determinada na presença de sacarose a 5%, de acordo com Albuquerque *et al.* (2010) com modificações, usando-se concentrações correspondentes ao composto até a diluição 1:1000. A partir do crescimento *overnight* as cepas foram sub-cultivadas a 35-37°C por 24h em caldo MH, depois foram distribuídos 0,9 mL do subcultivo em tubos de ensaio e, em seguida, adicionado 0,1 mL da solução correspondente às diluições do composto.

A incubação foi feita a 35-37°C por 24 horas com tubos inclinados a 30°. A leitura foi realizada através da observação visual da aderência da bactéria às paredes do tubo, após a agitação do mesmo e pela adição de fucsina. O ensaio foi realizado em duplicata. O mesmo procedimento foi realizado para o controle positivo, o digluconato de clorexidina a 0,12%. Foi considerada a CIMA a menor concentração do agente em contato com sacarose que impediu a aderência ao tubo de vidro.

4.9 Estudo da associação do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* com antibacterianos sintéticos comerciais

O estudo de associação do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* com os antibacterianos, foi conduzido por meio da técnica de difusão por disco em meio sólido (Bauer *et al.*, 1966; Oliveira *et al.*, 2006).

Uma alíquota de 20µL da CIM do produto teste foi transferida para os discos contendo os antibacterianos (Ampicilina - AMP; Gentamicina - GEN; Ceftriaxona – CEF; e Ciprofloxacinas – CIP), em suas respectivas concentrações, alocados em placas de Petri estéreis lisas (140x15) contendo o meio AMH, onde previamente foram inoculados com swabs estéreis, um volume aproximadamente de 1mL das suspensões bacterianas. Posteriormente, as placas foram incubadas a 35-37°C por 24h, para leitura do ensaio, que foi realizado por meio da medição do diâmetro do halo de inibição formado. O efeito

interferente da combinação do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* mais antibacterianos foi avaliado conforme a metodologia descrita por Cleeland; Squires (1991), conforme tabela 2. Os testes foram realizados em duplicata, e os resultados foram obtidos pela média aritmética dos diâmetros formados dos halos de inibição, nos dois ensaios paralelamente.

Tabela 2. Parâmetros de avaliação do estudo de associação da substância teste com antibacterianos.

Efeito	Parâmetro - diâmetro do halo de inibição
Sinérgico	$\geq 2\text{mm}$ ao obtido pelo antibiótico
Antagônico	$\leq 2\text{mm}$ ao obtido pelo antibiótico
Indiferente	= ao obtido pelo antibiótico

Fonte: Cleeland; Squires, 1991.

4.10 Preparo dos sistemas emulsionados contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*

O processo de obtenção dos sistemas emulsionados (nanoemulsão e nanoemulgel) contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* envolveu a determinação do EHL do óleo, seguido pela otimização das formulações por meio da preparação de nanoemulsões em diferentes concentrações para identificar a formulação de melhor resultado com base em critérios organolépticos, físico-químicos e de estabilidade. O estudo também incluiu a preparação de um nanoemulgel derivado da nanoemulsão que exibiu as características mais favoráveis deste estudo. Essa sequência metodológica se alinha com o objetivo de aumentar o potencial terapêutico do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* por meio do desenvolvimento de sistemas emulsionados eficientes e estáveis para aplicações potenciais em sistemas de liberação de medicamentos.

4.11 Determinação do Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*

Para calcular a concentração relativa de tensoativos necessários para produzir uma emulsão fisicamente estável, no que remete as combinações ideais de misturas óleo/água

da composição, faz-se necessário a Determinação do EHL, ou seja, o EHL ideal identificado, corresponde à emulsificação ótima desse óleo, caracterizada por um tamanho mínimo de gotícula e máxima estabilidade (Zanin *et al.*, 2002).

Para identificação do EHL ideal do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, foram preparadas nanoemulsões com este óleo, a partir de dois tensoativos com valores de EHL determinados, um de natureza lipofílica, o monooleato de sorbitano 80 - Span® 80 (EHL=4,3) e outro de natureza hidrofílica, polissorbato 80 - Tween® 80 (EHL=15), em diferentes proporções, de modo a originar valores definidos e escalonados de EHL. As proporções dos tensoativos foram calculados para valores de EHL de 12 a 15.

As nanoemulsões O/W foram preparadas pelo método de ultrassonicação e formuladas com 5% (p/p) de óleo, 5% (p/p) de tensoativos (Span® 80 + Tween® 80) e 90% (p/p) de água ultrapura, conforme tabela 3. Os componentes da formulação foram submetidos a homogeneização em aparelho de sonicação (modelo Eco-Sonics QR550; potência de 550W e frequência de 20kHz), ajustando para micro ponta de titânio (4mm de diâmetro), por um tempo de 2 min com 30% da potência, em banho de gelo. Após o preparo, as formulações foram armazenadas em tubos selados em temperatura ambiente (25 °C) para análise do EHL ideal.

Tabela 3. Valores do Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) para preparo de nanoemulsões contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, para análise da influência da quantidade de tensoativos.

F	Span® 80	Tween® 80	OE	Água Milli-Q®	Valor EHL Final
1	26% (13 mg)	74% (37 mg)			12
2	17% (8,5 mg)	83% (41,5 mg)	50 mg	900 µl	13
3	9% (4,5 mg)	91% (45,5 mg)			14
4	-	100% (50 mg)			15

F- Formulação; OE- Óleo; EHL-Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo.

Fonte: Acervo próprio.

4.12 Preparo das nanoemulsões contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* para otimização de formulações

Para o estudo de otimização foram preparadas nanoemulsões contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* que variaram as concentrações da fase aquosa, lipídica e de surfactantes do sistema emulsionado (Taha *et al.*, 2020).

As nanoemulsões foram preparadas pelo método de ultrassonicação, por meio da utilização de diferentes proporções de óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, mistura dos tensoativos (Span® 80 +Tween® 80) com EHL pré-definido e água ultrapura, totalizando dezessete formulações (F1 a F17), conforme quadro 1. Os componentes da formulação foram submetidos a homogeneização em aparelho de sonicação (modelo Eco-Sonics QR550; potência de 550W e frequência de 20kHz), ajustando para micro ponta de titânio (4mm de diâmetro), por um tempo de 2 min com 30% da potência, em banho de gelo. Após o preparo, as formulações foram armazenadas em tubos selados em temperatura ambiente (25 °C) para avaliação das propriedades organolépticas e físico-química, a fim de identificar formulação ideal para o preparo da nanoemulsão contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*.

Quadro 1. Composição das diferentes formulações, nanoemulsões contendo óleo *Eucalyptus staigeriana*, para estudo de otimização.

F	OE	Tensoativos	Água
1	0,131	0,02	0,849
2	0,0998968	0,159639	0,740464
3	0,05	0,0793611	0,870639
4	0,05	0,1682	0,7818
5	0,0611952	0,02	0,918805
6	0,15	0,224653	0,625347
7	0,0790775	0,23225	0,688672
8	0,099968	0,159639	0,740464
9	0,15	0,0976315	0,752368
10	0,131	0,02	0,849
11	0,15	0,152232	0,697768
12	0,0998968	0,159639	0,740464
13	0,0671	0,3	0,6329
14	0,0671	0,3	0,6329

15	0,131	0,3	0,569
16	0,05	0,1682	0,7818
17	0,0911772	0,100832	0,807991

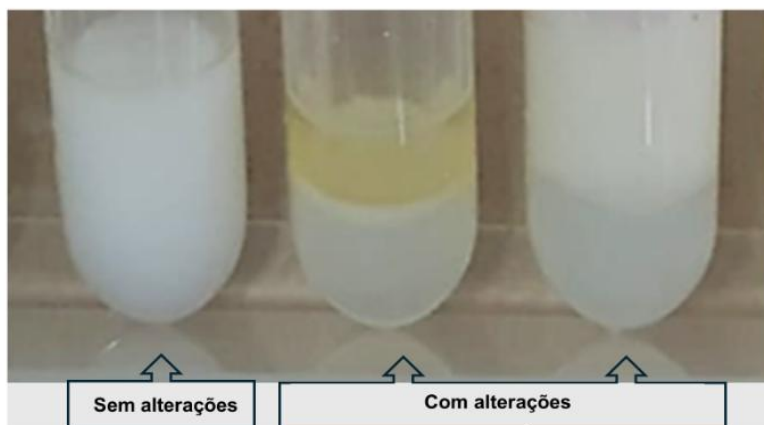
F- Formulação e OE – Óleo. Fonte: Acervo próprio.

4.13 Avaliação das propriedades organolépticas das nanoemulsões contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*

As propriedades organolépticas das nanoemulsões contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* foram avaliadas quanto aos aspectos olfativos e visuais, observando possíveis alterações de odor, cor, presença de cristais e/ou formação de fase dos sistemas emulsionados (Brasil, 2004).

A avaliação destes parâmetros foi realizada 24h após o preparo das formulações, bem como durante o período de armazenamento. Os resultados foram comparados e classificados em: sem alterações (cor homogênea, fluidas translúcidas e estáveis), ou com alterações: separação de fase e/ou formação de cristais, instáveis), conforme Figura 9.

Figura 9. Ilustração dos aspectos macroscópicos, cor e estabilidade dos sistemas emulsionados (formação de fases).



Fonte: Acervo próprio.

4.14 Avaliação das propriedades físico-química das nanoemulsões contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*

As características físico-química das nanoemulsões contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, foram analisadas por meio dos parâmetros de tamanho de

partícula (SIZE), índice de polidispersão (PDI), determinados por meio do equipamento Zetasizer Ultra Red. (Malvern Ins. Ltd, Reino Unido), através da técnica de espalhamento dinâmico de luz. Antes das medições, as nanoemulsões foram diluídas com água ultrapura (1:9 v/v). Os resultados foram avaliados 24 horas após o preparo da formulação e nos períodos pré-definido do estudo de estabilidade (Leão *et al.*, 2022).

4.15. Preparo do nanoemulgel contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*

O nanoemulgel foi preparado incorporando a nanoemulsão contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* em uma base de gel com Carbopol, água e agente gelificante (Raemdonck *et al.*, 2009).

O processo envolveu a adição de 100 mg de Carbopol e 10 ml de água ultrapura por técnica de adição lenta seguida de agitação magnética. Após homogeneização, adicionou-se 1 gota de agente gelificante e neutralizante (AMP/TIPA 85%). Na base do gel preparada, foram adicionados 5 ml da nanoemulsão por técnica de adição lenta, seguida de agitação manual com bastão de vidro. As formulações foram armazenadas em frascos de vidro hermeticamente fechados em ambiente refrigerado.

Avaliação das propriedades organolépticas do nanoemulgel (cor, cheiro, separação de fases, deslizamento e espalhabilidade tópica) e as propriedades físico-químicas (SIZE e PDI) foram investigados no estudo de estabilidade.

4.16 Estudo de estabilidade da nanoemulsão e nanoemulgel contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*

O estudo de estabilidade da nanoemulsão contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, foi conduzido com a formulação que apresentou melhores resultados do estudo de otimização (McClements, 2007). Foram preparadas quintuplicatas desta formulação, classificadas como F0, F1, F2, F3 e F4, seguindo a metodologia descrita em 4.9.

A estabilidade das nanoemulsões foram avaliadas 24h após o preparo (D1) até 90 dias, com testes em intervalos específicos (D3, D7, D10, D15, D30, D45, D60, D90). Os critérios de avaliação seguiram a metodologia descrita anteriormente (4.10 e 4.11), Durante este período de armazenamento, todas as nanoemulsões foram mantidas à

temperatura ambiente (25 ± 2 °C) em tubos de vidro fechados, proporcionado um ambiente controlado para análise de estabilidade.

A estabilidade do nanoemulgel foi avaliada pelos mesmos critérios definidos para as nanoemulsões descritos acima, incluindo o parâmetro de mediação do potencial hidrogeniônico (pH), que foi verificado por fita indicadora de pH (MQuant® da Merck), por meio da medida direta sobre cada amostra. Estes parâmetros foram analisados 24h após o preparo do sistema até 90 dias, nos intervalos de D5, D15, D20, D30, D60 e D90. Os resultados foram comparados com os da nanoemulsão utilizados no seu preparo. As amostras foram armazenadas em frascos de vidro hermeticamente fechados e refrigerados durante o estudo.

4.17 Avaliação da atividade antibacteriana da nanoemulsão e do nanoemulgel contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente às cepas de *Klebsiella pneumoniae*

Para avaliação da atividade antibacteriana da nanoemulsão contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* utilizou-se as técnicas da CIM e CBM, descritas respectivamente nos tópicos 4.3 e 4.4. (Palomino *et al.*, 2002; Ostrosky *et al.*, 2008; Ncube *et al.*, 2008; Clsi, 2012; Guerra *et al.*, 2012; Bona *et al.*, 2014).

A atividade antibacteriana do nanoemulgel contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* foi avaliada pelo teste de difusão em ágar por poço, seguindo a metodologia de Bona *et al.* (2014), com modificações. Previamente à realização dos experimentos, os inóculos bacterianos foram cultivados a 35-37°C em caldo MH. A partir deste cultivo, com auxílio de um swab, os micro-organismos foram semeados na superfície das placas de Petri, contendo ágar MH, por meio da técnica de semeadura por esgotamento. Foram realizadas perfurações no meio de cultura de aproximadamente 6 mm de diâmetro e nestas foram colocadas 20µl do nanoemulgel contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*. As placas foram incubadas a 37°C, e avaliadas em 24 e 48 horas quanto à homogeneidade do crescimento bacteriano e, nos casos em que, foi verificado inibição do crescimento, o diâmetro do halo foi medido com auxílio de uma régua milimétrica. Os testes foram realizados em duplicata e os resultados corresponderam aos valores médios.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análise cromatográfica do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*

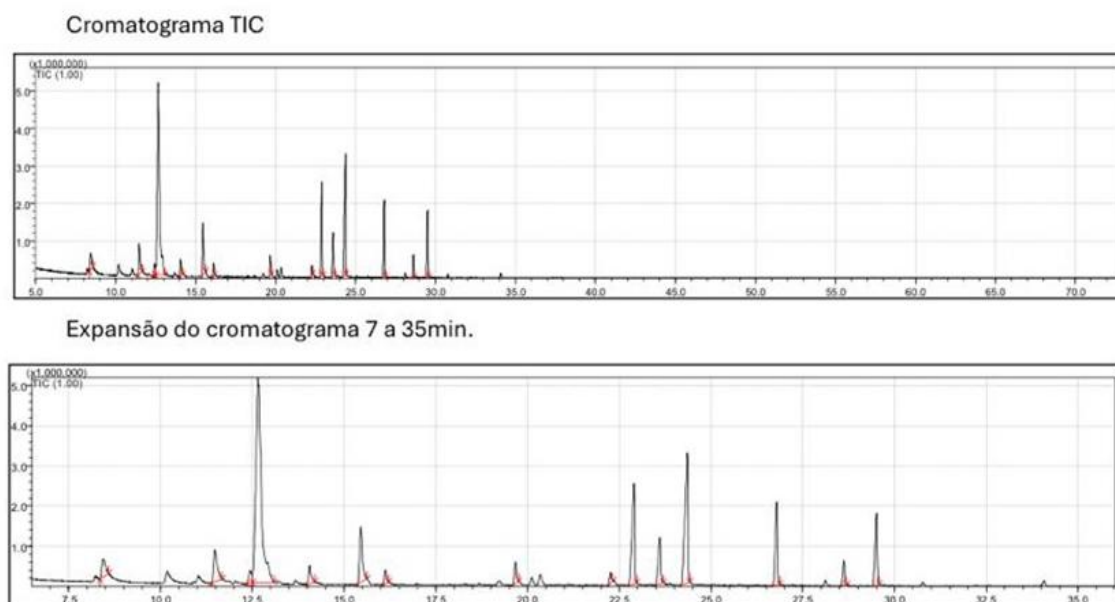
O óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* foram avaliados quanto aos seus constituintes químicos por meio da Cromatografia Gasosa acoplada ao detector por Espectrometria de Massas (CG-ES), conforme descrito no item 4.12. Os resultados obtidos estão ilustrados nas Tabela 4 e Figura 10.

Tabela 4. Constituintes químicos do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*.

Compostos	Similaridade	TR (min)	A (%)	IK _{calculado}	IK _{teórico}
Alpha-pineno	95	8,437	2,33	935	932
Alpha-felandreno	97	11,478	4,28	994	995
o-cimeno	92	12,425	1,42	1027	1027
Gamma-terpineno	97	14,063	1,73	1048	1050
Terpinoleno	96	15,459	5,75	1087	1088
Linalool	90	16,127	1,03	1088	1092
Terpinen-4-ol	91	19,673	1,67	1174	1177
Não identificada		22,268	0,74		
Nerol	93	22,904	9,53	1224	1227
Neral	93	23,605	4,18	1236	1238
Geraniol	86	24,358	13,45	1258	1252
Geranato de metila	97	26,788	6,16	1295	1301
Não identificada		28,620	1,65		
Acetato de geranil	92	29,505	5,27	1361	1368
Monoterpeno Hidrogenado			56,24		
(%)					
Monoterpeno Oxigenado (%)			41,29		
Identificados (%)			97,61		

TR (min) – Tempo de retenção. A (%) – Área percentual. IK calculado – Índice de Kovats calculado. IK teórico – Índice de Kovats teórico. Fonte: Acervo próprio.

Figura 10. Cromatograma do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*.



Fonte: Acervo próprio.

Como resultado, identificou-se um total de 56,24% de monoterpenos hidrogenados e 41,29% de monoterpenos oxigenados no óleo essencial de *Eucalypto staigeriana*. Os constituintes presentes no óleo essencial de *Eucalypto staigeriana*, como componentes majoritários, foram: geraniol (13,45%, similaridade de 86), nerol (9,53%, similaridade de 93), terpinoleno (5,75%, similaridade de 96) e geranato de metila (6,16%, similaridade de 97). Esses compostos não apenas predominaram na composição do óleo, mas também tiveram uma boa similaridade com suas referências teóricas, garantindo a precisão na identificação dos compostos.

De acordo com o descrito em relação à composição do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, foi identificado por Petrotti *et al.* (2022) o geranial (28,67%), nerol (19,68%), limoneno (17,29%) e 1,8-cineol (8,45%) como principais constituintes, apresentando efeito fungistático sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* e efeito fungicida sobre *Greeneria uvicola*. Esses achados corroboraram estudos anteriores, como os de Correa *et al.* (2019), que também identificaram geranial (28,67%), nerol (19,68%) e limoneno (17,29%) como principais componentes, porém demonstrando atividade antimicrobiana principalmente contra bactérias gram-positivas e potencial para inibição de biofilmes. Além disso, Ribeiro *et al.* (2017) destacaram

geranial (16,0%), geraniol (14,8%), metil geranato (11,0%), acetato de geranila (9,2%) e limoneno (7%) em suas análises, onde foi eficaz no controle da haemonchose em ovinos.

Outras espécies de eucalipto exibem diversas composições dos óleos essenciais, refletindo sua variabilidade genética e adaptações ambientais. Essas variações nos perfis químicos contribuem para diferentes atividades biológicas e aplicações potenciais. O óleo de *E. globulus* é caracterizado por um alto teor de 1,8-cineol, superior a 70%, o que contribui para suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias (Wang *et al.*, 2023). Em contraste, *E. citriodora* contém uma quantidade significativa de citronelal, aproximadamente 56%, que está associada às suas atividades antioxidante e antimicrobiana (Amri *et al.*, 2023). O óleo de *E. radiata* é rico em 1,8-cineol (60-75%), α -terpineol e terpinoleno, conhecidos por suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias (Nolêto *et al.*, 2022).

5.2 Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* contra as cepas de *Klebsiella pneumoniae*

Como parte da busca por novas alternativas antimicrobianas, foi realizada uma avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. Os resultados obtidos por microdiluição em caldo e expressos como CIM e CBM, estão detalhados na Tabela 5.

Tabela 5. Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

Cepas ¹	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM ($\mu\text{g/mL}$)
Kp ATCC 13883	500	>1000
Kp 101	1000	>1000
Kp 103	1000	>1000
Kp 105	500	>1000
Kp 110	500	>1000

¹Kp - *Klebsiella pneumoniae*

Fonte: Acervo próprio.

Pelos resultados da CIM, o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* demonstrou forte atividade antibacteriana contra as cepas de *Klebsiella pneumoniae* testadas. De

acordo com Sartoratto *et al.* (2004), o produto teste exhibe atividade antibacteriana forte quando a CIM é de até 500µg/mL, moderada para CIM entre 600 µg/mL e 1500µg/mL, e fraca para CIM acima de 1500µg/mL.

Com relação à CBM, observa-se que todas as cepas bacterianas demonstraram atividade superior a 1000 mg/mL. Conforme Hafidh *et al.* (2011), o composto é considerado bactericida quando a razão CBM:CIM está entre 1:1 a 2:1, já, o composto é considerado como bacteriostático quando a relação for maior que 2:1. Dessa forma, o óleo essencial *Eucalyptus staigeriana* apresentou efeito bacteriostático frente as cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

Corroborando aos resultados obtidos, estudos ressaltaram as propriedades antibacterianas de outros óleos essenciais contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. Diniz *et al.* (2023), mostrou que o óleo essencial de *Thymus vulgaris* apresentou forte atividade antibacteriana contra *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus saprophyticus*, com CIMs variando de 64 a 512 µg/mL e efeitos bactericidas para a maioria das cepas, com valores de CBM entre 256 e 1.024 µg/mL.

Já, nos resultados de Silva *et al.* (2023) o óleo essencial de *Origanum vulgare* L. teve forte atividade antibacteriana e efeito bactericida contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*, com CIM variando entre 128-256 µg/mL e CBM de 256-512 µg/mL.

Em outro estudo, o óleo essencial de *Gaultheria procumbens* apresentou forte inibição contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*, com propriedades bactericidas e bacteriostáticas, com CIM de 256 µg/mL a 512 µg/mL, e CBM de 256 µg/mL a 1024 µg/mL (Nogrega *et al.*, 2023).

Além disso, Souza *et al.* (2021) apontou que o óleo essencial de *Lavandula hybrida* Grosso apresentou uma atividade antibacteriana moderada contra *Klebsiella pneumoniae*, com CIM de 1.024 µg/mL, sugerindo um potencial efeito bacteriostático.

Santos *et al.* (2023) mostrou que o óleo essencial extraído do *Pogostemon cablin* exibiu atividade antimicrobiana significativa contra as cepas de *Klebsiella pneumoniae* testadas, com CIM de 512 µg/mL, indicando propriedades bacteriostáticas.

Com relação ao óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, há poucos estudos sobre sua atividade antibacteriana. Alguns desses estudos focaram em espécies bacterianas gram-positivas, o que difere do presente estudo, que utilizou cepas gram-negativas, em particular *Klebsiella pneumoniae*.

Neste sentido, estudos relatados por Correa *et al.* (2019) indicou que o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* apresentou atividade antibacteriana apenas contra

bactérias gram-positivas, incluindo cepas de *Enterococcus faecalis* resistentes e multirresistentes, da qual mostraram a menor CIM (3,12 para 6,25%) quando comparado com a cepa referência de *E. faecalis*.

Já Pereira *et al.* (2023) avaliou a atividade antibacteriana do éster de geraniol (acetato de geranila), constituinte do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*. Os resultados indicaram CIMs de 1,5 mg/mL, 3,12 mg/mL e 6,25 mg/mL contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* e *Listeria*, respectivamente.

Gilles *et al.* (2010) investigou a atividade antibacteriana de óleos essenciais de várias espécies de *Eucalyptus*, incluindo *Eucalyptus staigeriana*, da qual apresentou maior atividade. Os resultados mostram que *Staphylococcus aureus* foi a cepa mais sensível, enquanto *Pseudomonas aeruginosa* foi a mais resistente.

Outros estudos, indicaram que os óleos essenciais de diferentes espécies de *Eucalyptus* possuem uma notável eficácia contra uma variedade de micro-organismos patogênicos. Esteves *et al.* (2020) demonstrou que o óleo de *Eucalyptus urograndis* foi eficaz contra *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, com citronelol como composto predominante. A concentração efetiva do óleo contra *P. aeruginosa* foi de 16 µg/mL, inferior à Concentração Inibitória Mínima (CIM) da ceftazidima (64 µg/mL). Já para *E. coli*, a ação inibitória ocorreu apenas na concentração de 256 µg/mL, que é maior que as CIM da ceftazidima (8 µg/mL) e ceftriaxona (0,5 µg/mL).

Diferentemente, Fenghour *et al.* (2021) mostrou que o óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis* possui propriedades antibacterianas significativas contra a maioria das cepas bacterianas testadas, exceto *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*. A CIM variou de 0,08 a 0,36 µL/mL, mostrando maior eficácia contra *Staphylococcus saprophyticus* e *Escherichia coli* (0,08 µL/mL) e menor contra *Proteus mirabilis* (0,36 µL/mL).

Bektas *et al.* (2022) também avaliou o óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis* e observaram atividade antibacteriana contra *Aeromonas caviae*, com CIM variando de 200 µg/mL a 400 µg/mL. Por outro lado, Elangovan *et al.* (2023) mostraram que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* possui boa atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA), com CIM de 0,032 mg/mL para 7 das 9 cepas testadas.

E, ao mesmo tempo, considerando a capacidade de formação de biofilme associado à *Klebsiella pneumoniae*, este estudo também avaliou o efeito antiaderente do óleo essencial *Eucalyptus staigeriana* contra essas cepas. Para investigar esta atividade,

foi selecionada uma das cepas que demonstraram melhor resultado na CIM, bem como foi utilizado, como controle positivo, o digluconato de clorexidina a 0,12%. Os resultados estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6. Concentração Mínima de Aderência (CIMA) do óleo isolado de *Eucalyptus Staigeriana* frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

Cepas ¹	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
Kp 105	-	-	+	+	+	+
Digluconato de clorexidina 0,12% µg/mL	+	+	+	+	+	+

(-) sem adesão a parede do tubo (+) com adesão a parede do tubo.

Fonte: Acervo próprio.

Pelos resultados, observa-se que o óleo essencial *Eucalyptus staigeriana* apresentou uma maior atividade antiaderente, na proporção de 1:2, em comparação com o controle positivo (digluconato de clorexidina 0,12%) para a cepa Kp 105 testada.

A atividade antibiofilme do óleo essencial *Eucalyptus staigeriana* não foi amplamente explorada, resultando em um número limitado de estudos na literatura. Todavia, Corrêa *et al.* (2019) avaliou a atividade antibiofilme do óleo essencial de folhas secas de *Eucalyptus staigeriana* contra *Enterococcus faecalis*. O óleo essencial foi capaz de inibir a formação de biofilme em todas as concentrações testadas, com inibição significativa nos valores da CIM ($p < 0,05$). No entanto, mostrou pouca eficácia na remoção de biofilmes pré-formados, exceto nas maiores reduções observadas com 1/2 CIM em algumas cepas.

Estudos recentes têm explorado o potencial antibiofilme e efeitos antiaderentes de diferentes óleos essenciais contra *Klebsiella pneumoniae*. Ramalho *et al.* (2020) demonstrou que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* apresentou boa eficiência antiaderente à cepa de *Klebsiella pneumoniae*, com inibição do biofilme na concentração de 1:8, semelhante ao controle de digluconato de clorexidina a 0,12%.

Já, o óleo essencial de *Lavandula hybrida* Grosso mostrou atividade antibacteriana moderada contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*, (CIM50 = 1.024 µg/ml) e inibiu a adesão bacteriana na concentração de 1:32 (Souza *et al.*, 2021).

Outro estudo avaliou a capacidade de inibição da formação de biofilme de *Klebsiella pneumoniae* dos principais constituintes dos óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* (cinamaldeído e eugenol) e *Origanum onites* (timol e carvacrol). Também foi

testado o efeito sinérgico da combinação de cinamaldeído e eugenol, timol e carvacrol. Os resultados mostraram efeito inibitório do biofilme em 46,15% a 62% dos isolados de *Klebsiella pneumoniae*, sem sinergismo observado nas combinações (Mitri, 2020).

Bouguenoun *et al.* (2023) constatou que o óleo essencial de *Thymus pallescens* apresentou atividade antibacteriana significativa contra *Klebsiella pneumoniae*, com CIMs (0,16 a 0,63 mg/mL), além de ser eficaz na inibição e erradicação de biofilmes na concentração de 0,16 mg/mL em 24 a 60 minutos.

Mihai *et al.* (2022) avaliou a atividade antibiofilme de vários óleos essenciais contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*, com o objetivo de estabelecer as concentrações mínimas de erradicação do biofilme. Na avaliação realizada em períodos de 24 e 48 horas, os óleos essenciais de orégano (0.002196%; 0.002806%), tomilho (0.003172%; 0.005002%) e cravo (0.039304%; 0.078169%) foram os mais eficazes.

Mohamed *et al.* (2018) constatou que o óleo de hortelã exibiu fortes efeitos inibitórios do biofilme de *Klebsiella pneumoniae*, variando de 69,2% a 98,2% a 5 µl mL⁻¹, enquanto o óleo de tomilho demonstrou excelentes atividades de erradicação do biofilme, variando de 80,1% a 98,0% a 10 µl mL⁻¹.

Por outro lado, Cheruvanachari *et al.* (2022), ao estudar o Terpinen-4-ol, componente do óleo essencial de *Kewda*, verificou que este possui atividade antibacteriana e antibiofilme contra *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, com CIMs de 50 e 25 mm, respectivamente. A capacidade de reduzir a espessura do biofilme formado foi confirmada por meio de análises microscópicas.

Chen *et al.* (2023) verificou que o óleo essencial de *Monarda didyma* mostrou efeito inibitório significativo na formação de biofilme de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos, reduzindo a formação de biofilme em até 60% em concentrações de 2,5 mg/ml (2CIM).

A pesquisa também buscou investigar a associação do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* sobre a ação de antibacterianos sintéticos comerciais dentre eles, a Ampicilina (AMP), Gentamicina (GEN), Ceftriaxona (CEF) e Ciprofloxacino (CIP), como mostra a Tabela 7.

Tabela 7. Associação do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, aos antibacterianos.

Cepa ¹	Substância	AMP ²	GEN ³	CEF ⁴	CIP ⁵
Kp ATCC	Cepa + antibiótico	0 mm	20 mm	28 mm	12 mm
	Cepa + antibiótico + óleo	8 mm↑	16 mm↓	22 mm↓	24 mm↑
Kp 101	Cepa + antibiótico	0 mm	20 mm	26 mm	24 mm
	Cepa + antibiótico + óleo	24 mm ↑	20 mm*	20 mm ↓	26 mm ↑
Kp 103	Cepa + antibiótico	0 mm	18mm	26 mm	12 mm
	Cepa + antibiótico + óleo	0 mm *	24 mm↑	44 mm↑	12 mm*
Kp 105	Cepa + antibiótico	12 mm	20 mm	24 mm	36 mm
	Cepa + antibiótico + óleo	8 mm↓	20 mm*	32 mm↑	12 mm↓
Kp 110	Cepa + antibiótico	20 mm	20 mm	28 mm	30 mm
	Cepa + antibiótico + óleo	10 mm↓	16 mm↓	22 mm↓	34 mm↑

¹ Kp - *Klebsiella pneumoniae*; ²Ampicilina; ³Gentamicina; ⁴Ceftriaxona; ⁵Ciprofloxacino; * Resultados expressos em mm – milímetro (diâmetro dos halos de inibição do crescimento microbiano); ** Efeito sinérgico (↑); efeito antagônico (↓); efeito indiferente (*).

Fonte: Acervo próprio

Com relação a associação, foi verificado um perfil semelhante para os efeitos sinérgicos e antagônicos com 40% de ambas as cepas, e 20% apresentaram efeitos indiferentes. Observou-se uma predominância do efeito sinérgico do antibacteriano Ciprofloxacino (CIP) quando associado ao óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*.

Embora não tenham sido encontrados estudos de associação do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* com antibacterianos, outras espécies de planta têm sido estudadas. Um estudo demonstrou que o óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis* apresentou propriedades antibacterianas contra biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* e, ao ser combinado com os antibacterianos ciprofloxacino e gentamicina, o efeito foi sinérgico contra as cepas bacterianas (Al-qaysi *et al.*, 2019).

Elangovan e Mudgil (2023) demonstrou que o óleo de *Eucalyptus globulus* apresentou efeitos sinérgicos com antibióticos contra *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA), alterando a permeabilidade da membrana e aumentando a eficácia dos antibióticos. Resultados semelhantes, apontou que a combinação dos óleos essenciais de *Melaleuca alternifolia* (CIM 4 a 8 µg/mL) e *Eucalyptus globulus* (CIM 32 a 256 µg/mL) com oxacilina mostrou um efeito sinérgico contra o MRSA (ISEPPI *et al.*, 2023).

Hendry *et al.* (2009) investigou a eficácia antibacteriana do óleo bruto de eucalipto (EO) e seu componente 1,8-cineol, sozinho e em combinação com digluconato de

clorexidina (CHG), contra micro-organismos formadores de biofilme. O CHG foi mais ativo, mas atividade antibacteriana sinérgica foi observada quando combinado com EO ou 1,8-cineol, particularmente contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Pseudomonas aeruginosa*.

O estudo de Resende *et al.* (2022) avaliou a associação dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Mentha piperita* L. com antimicrobianos comerciais. Os resultados revelaram que o óleo de *Eucalyptus globulus* potencializou a ação da amoxicilina, cefalotina e gentamicina contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Além disso, o óleo de *Mentha piperita* L. demonstrou sinergia significativa com a amoxicilina contra *S. aureus*.

Em relação à *Klebsiella pneumoniae*, Silva Mariz *et al.* (2023) observaram que a combinação do óleo essencial de *Lavandula hybrida* com antimicrobianos sintéticos apresentou resultados variados. Com a ampicilina, ocorreram efeitos sinérgicos e antagônicos em 50% das cepas testadas. Já com gentamicina, a maioria das cepas analisadas mostrou um efeito sinérgico.

Por outro lado, Cruz *et al.* (2024) analisou a combinação do óleo essencial de *Juniperus communis* com cefalotina e ampicilina contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. Os resultados revelaram que, na maioria das cepas, essas combinações apresentaram efeitos antagônicos e indiferentes. No entanto, a combinação com a cefalotina demonstrou um efeito sinérgico contra uma cepa específica.

Bariz *et al.* (2023) ao investigar a combinação do óleo essencial de *Thymus algeriensis* com antibacterianos contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*, detectaram uma interação sinérgica com amoxicilina-ácido clavulânico. Comparando-se com o disco contendo apenas amoxicilina-ácido clavulânico, o diâmetro da zona de inibição do disco combinado aumentou de 2 para 4mm, evidenciando um efeito sinérgico significativo.

Além disso, os óleos essenciais de tomilho e hortelã, junto com seus componentes ativos, mostraram atividades promissoras de antibiofilme contra *Klebsiella pneumoniae* quando combinados com ciprofloxacino, reduzindo a formação de biofilme e aumentando a eficácia antibiótica (Mohamed *et al.*, 2018).

Silva *et al.* (2023) demonstrou que o óleo essencial de *Origanum vulgare* L. (orégano), quando combinado com ampicilina e gentamicina, possui um efeito sinérgico significativo contra algumas cepas de *Klebsiella pneumoniae*. Já, Cordeiro *et al.* (2020) investigou o uso de carvacrol combinado com ceftazidima e cefepima contra *Klebsiella pneumoniae*. A combinação mostrou efeito aditivo em 100% das cepas analisadas,

indicando que o carvacrol pode ser um adjuvante potencial no tratamento de infecções por *K. pneumoniae* com esses antibióticos.

5.3 Obtenção dos sistemas emulsionados contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*

5.3.1 Determinação do Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*

Para o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, não há EHL descrito na literatura para sua veiculação em sistemas emulsionados. Este parâmetro foi definido neste estudo; as análises seguiram a metodologia descrita nos itens 4.8 e 4.11, e os resultados estão na Tabela 8.

Tabela 8. Diâmetro médio da gotícula (SIZE) e índice de polidispersão (PDI) das nanoemulsões para análise de EHL do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*.

F ¹	Valor EHL ²	D1 ³		D10 ⁴	
	Final	Size ⁵ (nm)	PDI ⁶	Size (nm)	PDI
1	12	85,7	0,32	87,9	0,14
2	13	73,8	0,40	114,5	0,26
3	14	89,3	0,32	89,7	0,21
4	15	60,48	0,39	x	x
	μ^7	77,32	0,35	97,36	0,20
	σ^8	13,03	0,0435	14,86	0,06

¹F- Formulação; ²EHL-Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo; ³D1- 1 dia; ⁴D10 - 10 dias; ⁵Size - diâmetro médio da gotícula; ⁶PDI - índice de polidispersão; ⁷(μ): Média; ⁸(σ): Desvio Padrão.

A fórmula 1 – EHL 12, com 26% de Span® 80 e 74% de Tween® 80, apresentou os melhores resultados para o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*. O tamanho das gotículas variou de 85,7 a 87,9 nm, mantendo-se ≤ 100 nm do D1 ao D10, enquanto o índice de polidispersão foi $\leq 0,3$.

Os resultados estão em conformidade com os relatados para óleos de origem vegetal com valor de EHL entre 6 e 12 (Smejkal *et al.* (2024).

Além disso, cumpre os critérios de avaliação proposto por Chime *et al.* (2014), onde nanoemulsões com valor de $PDI \leq 0,3$ sugere maior homogeneidade, ao sistema, e tamanhos de gotículas ≤ 100 nm proporcionam melhor estabilidade e pode aumentar a

biodisponibilidade, melhorando a taxa de liberação de fármacos devido à maior área superficial.

No preparo de nanoemulsões, vários estudos têm demonstrado a importância de determinar com precisão o valor de EHL, pois variações na composição do óleo essencial e nos métodos de processamento podem afetar significativamente os resultados, exigindo abordagens personalizadas para cada tipo de óleo.

Santos *et al.* (2023) verificaram que nanoemulsões do óleo essencial de limão apresentaram mecanismos de desestabilização variados, dependendo do valor de EHL. As formulações continham 0,5% de emulsificantes, 5% de óleo essencial de limão e água deionizada. As razões de Tween 80/Span 20 geraram números de EHL de 11 a 15. As nanoemulsões com EHL inferior a 12 apresentaram distribuições bimodais, levando à coalescência, enquanto aquelas com EHL 12 mostraram maior estabilidade física, com distribuição monomodal do tamanho das gotículas ao longo do tempo.

Pascual-Mathey *et al.* (2022) constataram que a formulação ótima e estável de nanoemulsões de óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) teve um valor de EHL 12, para uma relação surfactante: óleo de 5:1. Esta combinação resultou em nanoemulsões com tamanho de gotícula de 55 nm e um índice de polidispersidade (PDI) de 0,2.

Da mesma forma, nanoemulsões de óleo essencial de murta-do-anis (*Syzygium anisatum*) mostraram ótimos resultados com EHL de 12, com tamanho de gotícula de 30,23 nm. Por outro lado, EHL de 14 foi necessário para a produção de nanoemulsão contendo óleo essencial de murta-limão (*Murraya paniculata*) com tamanho de gotícula de 16,07 nm. Estes parâmetros foram obtidos com 1% de óleo essencial e 10% de surfactante (Smix), usando ultrassom por 5 min (Nirmal *et al.*, 2018).

O EHL 12 foi também requerido para obtenção de nanoemulsão incorporando óleo essencial de citral. A concentração de citral foi fixada em 10%, e a proporção ideal de surfactante (Span 85 e Brij 97) variou de 0,4 a 0,6. Utilizando uma potência ultrassônica de 18 W por 120 segundos, as nanoemulsões de citral formadas resultaram em tamanhos de gotículas ≤ 100 nm, apresentando boa estabilidade (LU *et al.*, 2018).

Diferentemente, Al-Asmari *et al.* (2023) obteve nanoemulsões contendo óleos essenciais de orégano e tomilho, com variações significativas no valor do EHL. Para o óleo essencial de orégano, identificou-se um EHL de 4,3, resultando em um menor valor de PDI 0,192 e um tamanho de gotícula de 185,1 nm. Com relação ao óleo essencial de tomilho, o EHL ideal foi de 14, com PDI de 0,198 e tamanho de gotícula de 130 nm.

Nanoemulsão contendo óleo volátil de *Matricaria recutita* L. foi formulada com EHL próximo a 7, usando uma mistura de Tween 80 e Span 80 (5%, p/p). As nanoemulsões com e sem óleo essencial mostraram aspecto translúcido, diâmetro médio de $104,97 \pm 4,03$ e $92,32 \pm 6,17$ nm, e índice de polidispersidade de $0,27 \pm 0,06$ e $0,31 \pm 0,04$, respectivamente (Lopes *et al.*, 2023).

O estudo com o óleo essencial de noz indicou que o EHL ideal de 14,5 resultou na maior estabilidade da nanoemulsão. Esses resultados foram obtidos com um homogeneizador a 32.000 rpm por 5 min., demonstrando que tanto o EHL quanto a velocidade de homogeneização influenciaram significativamente a estabilidade do sistema (Putri e Ariyanto, 2022).

Saengsorn e Jimtaisong (2017) obtiveram uma nanoemulsão estável com óleo de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) apresentando EHL de aproximadamente 8,5. Os emulsificantes utilizados foram steareth-2 (EHL 5) e steareth-21 (EHL 15), em concentração de 5% (p/p). A homogeneização foi realizada a 6.500 rpm por 5 min. a 75°C.

5.3.2 Estudo de otimização, avaliação das propriedades organolépticas e físico-química das nanoemulsões contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*

Neste estudo, foram otimizadas 17 formulações, onde o preparo seguiu a metodologia descrita no item 4.9, tendo por base o EHL 12 (26% de Span® 80 e 74% de Tween® 80), dentro da faixa encontrada como mais apropriado para incorporar o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*. Os resultados das propriedades organolépticas e físico-química das nanoemulsões obtidas com EHL 12 estão descritos na Tabela 9.

Tabela 9. Avaliação das propriedades organolépticas e físico-química de nanoemulsões contendo o óleo de *Eucalyptus staigeriana* do estudo de otimização.

F ¹	Análise macroscópica	Size ² (nm)	PDI ³
1	Com alterações	677,8	0,4951
2	Com alterações	223,3	0,5053
3	Sem alterações	248,1	0,3371
4	Com alterações	311,5	0,7259
5	Sem alterações	265,2	0,4341
6	Com alterações	284,8	0,4071
7	Com alterações	323,6	0,7721

8	Sem alterações	198,1	0,4501
9	Sem alterações	94,29	0,1979
10	Com alterações	423,6	0,3858
11	Com alterações	482,6	0,4253
12	Sem alterações	84,42	0,3159
13	Com alterações	214,5	0,4712
14	Com alterações	49,78	0,3802
15	Com alterações	272,3	0,2834
16	Sem alterações	313,3	0,4922
17	Sem alterações	105,9	0,3088

¹F = Formulação; ²Size - diâmetro médio da gotícula; ³PDI - índice de polidispersão;
Fonte: Acervo próprio.

Com relação às propriedades organolépticas, na avaliação de 24 horas, 10 nanoemulsões (F1, F2, F4, F6, F7, F10, F11, F13, F14 e F15) mostraram separação de fases, caracterizando-se como sistemas instáveis. Por outro lado, 7 formulações (F3, F5, F8, F9, F12, F16 e F17) permaneceram estáveis, com cor homogênea, aspecto translúcido e odor característico.

Quanto às propriedades físico-químicas, analisadas pelo tamanho de gotículas (SIZE) e índice de polidispersão (PDI), a formulação 9 (15% de óleo, 10% de tensoativos com EHL 12 e 75% de água) apresentou os melhores resultados, com menor PDI (0,19) e diâmetro médio de gotícula ≤ 100 nm (94,29 nm), indicando um sistema de distribuição estreita e monomodal. Essa nanoemulsão foi escolhida como a formulação mais apropriada para veicular o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* e para os testes biológicos *in vitro* e estudo de estabilidade.

Outro estudo obteve uma nanoemulsão do óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, assistida por ultrassom, otimizando parâmetros para atingir o tamanho de gotícula e a estabilidade da emulsão. O Tween 80 e o caseinato de sódio foram os estabilizadores mais eficazes, resultando em um tamanho de gotícula variando de 100 a 200 nm, com PDI de 0,23 (Song *et al.* 2021).

Neste mesmo contexto, Ebrahimzadeh *et al.* (2022) constataram que a alta concentração de Tween 80 e a baixa concentração de óleo essencial de eucalipto afetaram positivamente a redução do tamanho das gotículas das nanoemulsões, sugerindo que esses fatores foram significativos na estabilidade. A variação na concentração de etanol, no entanto, não mostrou impacto no tamanho da gotícula.

Adak *et al.* (2020) obteve duas combinações ótimas de óleo essencial de *Eucalyptus globulus* e Tween 80 (surfactante), proporções de 1:2 e 1:2,5 com uma concentração de 6% de óleo. Os tamanhos das gotículas das nanoemulsões foram medidos

em 4,04 nm e 2,27 nm, com índices de polidispersão (PDI) de 0,37 e 0,77, respectivamente, indicando boa estabilidade e uniformidade.

Como também, Dakhlaoui *et al.* (2023) estudaram o efeito de surfactantes (Tween 20, 40 e 80) na formação de nanoemulsões com óleo essencial de *Eucalyptus cladocalyx*. O Tween 80 foi identificado como o surfactante mais eficaz, resultando em uma nanoemulsão estável com tamanho de gotícula de 40 nm e índice de polidispersão (PDI) de 0,49. Essa estabilidade foi mantida por 4 meses de armazenamento.

E, Alhasso *et al.* (2023) desenvolveram nanoemulsões para melhorar a entrega de mupirocina na pele, utilizando o óleo de eucalipto ou eucaliptol, com Tween® 80 e Span® 80. A nanoemulsão com o óleo de eucalipto teve um tamanho menor de gotícula SIZE de $35,89 \pm 0,68$ nm e PDI mais estreito de $0,10 \pm 0,02$ nm em comparação com nanoemulsão com eucaliptol. Ambas as formulações foram estáveis a 25 °C por três meses, com a capacidade de aumentar a permeação transdérmica do fármaco em comparação com o controle.

Já, Sharma *et al.* (2020) observaram que o tipo de surfactante afeta o tamanho das gotículas em nanoemulsões de óleo essencial de *Eucalyptus globulus*. O tamanho médio das gotículas foi menor com Tween 20 ($474 \pm 88,08$) comparado ao Tween 80 ($628 \pm 88,79$), possivelmente devido à diferença no peso molecular dos surfactantes. A nanoemulsão com dodecil sulfato de sódio e Tween 20 também apresentou menor tamanho ($260 \pm 48,30$) em comparação à sem o composto.

Sandhu *et al.* (2023) otimizaram uma nanoemulsão híbrida com óleo de *Eucalyptus globulus*, Tween 20 e nanopartículas de sulfeto de zinco (ZnS). A formulação mais estável foi 1:5 (ZnSNPs:óleo), apresentando um tamanho médio de gotícula de $60 \pm 10,00$ nm e forma retangular, o que contribuiu para sua estabilidade e eficácia como larvívica.

Assim como, Kaur *et al.* (2019) formularam uma nanoemulsão com o óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, onde a proporção de 1:2 de óleo para Tween 20 resultou na formulação mais estável, apresentando gotículas esféricas de 20 a 40 nm.

5.3.4 Estudo de estabilidade da nanoemulsão e nanoemulgel contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*

Com base na viabilidade dos resultados obtidos no estudo de otimização das nanoemulsões, foi realizado o estudo de estabilidade da nanoemulsão e do nanoemulgel

contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* seguindo a metodologia do item 4.14. Os resultados estão dispostos na Tabela 10 e Tabela 11.

Tabela 10. Estudo de estabilidade da nanoemulsão e do nanoemulgel do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* em função do diâmetro da gotícula - SIZE, em nanômetro (nm).

F ¹	D1	D5	D15	D20	D30	D60	D90
Nanoemulgel	93,24	150,10	106,10	88,99	138,70	83,20	83,36
Nanoemulsão	88,33	90,46	104,80	99,42	80,38	105,10	81,38
μ^2	90,79	120,28	105,45	94,21	109,54	94,15	82,37
σ^3	3,47	42,17	0,92	7,38	41,24	15,49	1,40

1F- Formulação; 2(μ): Média; 3(σ): Desvio Padrão.

Fonte: Acervo próprio.

Tabela 11. Estudo de estabilidade do nanoemulsão e do nanoemulgel do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* em função do índice do polidispersão (PDI).

F	D1	D5	D15	D20	D30	D60	D90
Nanoemulgel	0,24	0,32	0,40	0,27	0,33	0,26	0,35
Nanoemulsão	0,20	0,24	0,26	0,27	0,17	0,27	0,17
μ^2	0,22	0,28	0,33	0,27	0,25	0,27	0,26
σ^3	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	0,13

1F- Formulação; 2(μ): Média; 3(σ): Desvio Padrão.

Fonte: Acervo próprio.

Com base nos resultados, a nanoemulsão do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* apresentou tamanho de gotículas variando de 80,38 a 105,10 nm, mantendo-se ≤ 100 nm até o D90. O índice de polidispersão (PDI) variou de 0,17 a 0,27, com amostras homogêneas ($PDI \leq 0,3$) até o D90.

Corroborando com o descrito, o estudo de Godoi *et al.* (2017) avaliou a estabilidade de nanoemulsões contendo óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, que demonstraram ser adequadas, sem perda significativa de qualidade, por até 90 dias. O tamanho médio das gotículas foi de aproximadamente 200 nm, com índice de polidispersão de 0,2, quando armazenadas a 4°C.

Já, Sharma *et al.* (2024) demonstraram que nanoemulsões do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* contendo drogas azólicas apresentam boa estabilidade por 60 dias, com tamanho de gotícula variando de 245 a 415 nm, potencial zeta entre -9,20 e -25,4

mV e eficiência de encapsulamento de 40% a 50%, indicando seu potencial para aplicações antifúngicas.

Outro estudo avaliou a estabilidade de nanoemulsão com óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, que se mantiveram estáveis após 50 dias de armazenamento, indicando que a formulação preserva eficazmente o óleo de eucalipto encapsulado, sem degradação ou separação significativa. As nanoemulsões apresentaram atividade antibacteriana e anti-inflamatória, sugerindo que sua estabilidade mantém essas propriedades benéficas (Sharma *et al.*, 2021).

Quatrin *et al.* (2017) obteve uma nanoemulsão com óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, cuja estabilidade se manteve consistente por 30 dias, com tamanho médio de gotícula de aproximadamente 150 nm e PDI em torno de 0,2. Essa estabilidade foi essencial para preservar as propriedades antimicrobianas contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida spp.*

O estudo de Abreu *et al.* (2020) mostraram que as nanoemulsões poliméricas enriquecidas com óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* são estáveis por mais de 60 dias. A formulação ideal foi caracterizada por um surfactante de cadeia mais longa, resultando em um tamanho de partícula de $489,2 \pm 0,25$ nm e uma eficiência de encapsulamento de $92,5 \pm 0,17\%$.

Como também, Mohammed *et al.* (2020) avaliou a estabilidade da nanoemulsão do óleo essencial de eucalipto em ciclos de congelamento e descongelamento. As formulações demonstraram boa estabilidade física, com tamanho de partícula de 8,57 nm e PDI de 0,28. A nanoemulsão manteve sua estabilidade por 90 dias a 25°C, 7 dias a 0°C e 14 dias a 54°C, mostrando resistência a temperaturas extremas durante transporte e armazenamento, essenciais para sua eficácia como inseticida.

No que remete aos resultados obtidos no estudo de estabilidade do nanoemulgel do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, observa-se que o mesmo apresentou tamanho de gotículas variando de 83,20 a 150,10 nm, mantendo-se ≤ 100 nm até o D90. O índice de polidispersão (PDI) variou de 0,24 a 0,40, com amostras homogêneas ($PDI \leq 0,3$) até o D90. Os resultados foram consistentes ao comparar com a nanoemulsão utilizada no preparo.

Durante o período avaliado, o pH da nanoemulsão e do nanoemulgel do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* foi mantido entre 4,0 e 4,5. Não foram observadas alterações de cor, odor ou separação de fases, e o nanoemulgel apresentou bom deslizamento e espalhabilidade tópica.

O estudo de Chopade *et al.* (2022) desenvolveu um nanoemulgel para Tenoxicam com óleo essencial de eucalipto, visando melhorar a penetração transdérmica do anti-inflamatório. O nanoemulgel apresentou características favoráveis, com tamanho de partícula de 125,05 nm, teor de fármaco de 97,05% e pH de 6,2, indicando boa compatibilidade para aplicação tópica.

Já, Ahmad *et al.* (2023) formulou um nanoemulgel com cetoconazol, utilizando 15% de óleo essencial de cravo e 20% de óleo essencial de eucalipto. As gotículas apresentaram tamanhos inferiores a 100 nm e polidispersidade de 0,24 a 0,26. Após 24 horas, as porcentagens de cetoconazol liberadas foram de $91 \pm 4,5\%$ para o óleo de cravo e $89 \pm 7\%$ para o óleo de eucalipto. As formulações mostraram maior inibição do crescimento fúngico em comparação com uma formulação comercial, evidenciando que a matriz de gel propicia liberação controlada e sustentada do medicamento.

Outros estudos, como o de Alipanah *et al.* (2022) elaborou um nanoemulgel a partir de uma nanoemulsão do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* gelificada com carboximetilcelulose. O nanoemulgel apresentou tamanho de gotícula de aproximadamente 200 nm, e demonstrou eficácia larvícida com concentração letal, LC50 de 32 µg/mL contra larvas de *Anopheles stephensi* e propriedades antibacterianas com IC50 de 187 µg/mL contra *Staphylococcus aureus*, superando a nanoemulsão, que teve IC50 de 3732 µg/mL.

Alhakamy *et al.* (2021) otimizaram uma formulação de nanoemulgel à base de óleo de eucalipto com etoricoxibe. O nanoemulgel apresentou um tamanho de gotícula de $179,6 \pm 4,21$ nm, PDI de $0,373 \pm 0,02$ e potencial zeta de $-10,9 \pm 1,01$ mV, indicando boa estabilidade. Liberou $85,3 \pm 1,8\%$ do fármaco em 12 horas e foi considerado seguro para uso tópico. O teste anti-inflamatório in vivo, utilizando o método de edema de pata de rato, demonstrou $78,4 \pm 3,5\%$ de inibição da inflamação em 8 horas.

Além disso, Rehman *et al.* (2022) desenvolveram nanoemulgéis com eucaliptol para cicatrização de feridas. A formulação F5 teve pH entre 5 e 6, homogeneidade e espalhabilidade adequadas, tamanho de gotícula de $139 \pm 5,8$ nm e 94,81% de carga de fármaco. A porcentagem de contração da ferida no grupo F5 foi de $100\% \pm 0,015$, superando os grupos padrão e controle, evidenciando a eficácia do nanoemulgel na cicatrização.

5.4 Avaliação da atividade antibacteriana da nanoemulsão e do nanoemulgel contendo o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* frente às cepas de *Klebsiella pneumoniae*

Os testes *in vitro* para avaliação da atividade antibacteriana da nanoemulsão do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* foram realizados conforme a metodologia do item 4.15, e comparados àqueles obtidos com o óleo isolado. Os resultados estão dispostos na Tabela 12.

Tabela 12. Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima do óleo isolado e da nanoemulsão de *Eucalyptus Staigeriana* frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

Cepas ¹ /Teste		Óleo essencial	Nanoemulsão
Kp ATCC 13883	CIM	500µg/ml	500µg/ml
	CBM	>1000µg/ml	>1000µg/ml
Kp 101	CIM	1000µg/ml	1000µg/ml
	CBM	>1000µg/ml	>1000µg/ml
Kp 103	CIM	1000µg/ml	1000µg/ml
	CBM	>1000µg/ml	>1000µg/ml
Kp 105	CIM	500µg/ml	500µg/ml
	CBM	>1000µg/ml	>1000µg/ml
Kp 110	CIM	500µg/ml	500µg/ml
	CBM	>1000µg/ml	>1000µg/ml

¹Kp - *Klebsiella pneumoniae*

Fonte: Acervo próprio.

Pelos resultados da CIM e CBM, a nanoemulsão do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* apresentou forte atividade antibacteriana contra as cepas de *Klebsiella pneumoniae* testadas. Além disso, demonstrou efeito bacteriostático contra essas cepas (Sartoratto *et al.*, 2004; Hafidh *et al.*, 2011).

Estudos recentes têm explorado a eficácia de nanoemulsões de diferentes óleos essenciais contra *Klebsiella pneumoniae*. Fadel *et al.* (2023) formulou uma nanoemulsão combinando óleo essencial de *Lavandula angustifolia* e nanopartículas de ouro. As

nanopartículas apresentaram tamanho de 176,4 nm, índice de polidispersidade de 0,429 e potencial zeta de -7,38 mV. A nanoemulsão mostrou forte atividade antibacteriana contra *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*, com valores para CIMs de 32 e 16 µg/mL, respectivamente.

Aldahlawi *et al.* (2022) prepararam três nanoemulsões com óleos essenciais de coentro, endro e linhaça, utilizando surfactantes e água, resultando em tamanhos de gotículas entre 25 e 62 nm. A atividade antibacteriana contra *Klebsiella pneumoniae* mostrou CIMs de $21,8 \pm 2,9$ (% v/v) para a nanoemulsão do óleo de linhaça, enquanto as de coentro e endro apresentaram CIMs maiores, com valores de $31,0 \pm 4,5$ e $42,1 \pm 11,9$ (% v/v), respectivamente.

Tayeb *et al.* (2022) avaliaram a atividade antibacteriana da nanoemulsão do óleo essencial de cravo contra *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos. A formulação apresentou gotículas de $138 \pm 1,769$ nm, indicando ser monodispersa e estável. A CIM de 0,16% inativou completamente *K. pneumoniae* e manteve sua estabilidade funcional após duas semanas de armazenamento a 4 °C.

Já, El-Sherbiny *et al.* (2024) desenvolveram uma nanoemulsão de óleo de canela com tamanho de gotícula de $70,6 \pm 28,3$ nm, PDI de 0,076 e potencial zeta de 6,9 mV, indicando boa estabilidade. A nanoemulsão apresentou atividade antibacteriana significativa contra cepas clínicas de *Klebsiella pneumoniae*, com CIM variando de 0,077% a 0,31% v/v, equivalente a 0,2 — 0,82 ng/mL.

Diferentemente, Monteiro *et al.* (2023) demonstraram que as nanoemulsões do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* apresentaram tamanho médio de gotículas entre 13,14 e 56,84 nm, com PDI variando de 0,12 a 0,30. Em relação à atividade antibacteriana contra *Klebsiella pneumoniae*, a nanoemulsão teve CIM menor (5,0 mg/mL) do que o óleo essencial (15,0 mg/mL), enquanto a CBM foi superior a 20 mg/mL para a nanoemulsão e 20,0 mg/mL para o óleo essencial.

No estudo de Amasha (2024) nanoemulsões foram elaboradas a partir dos óleos essenciais de *Coriandrum sativum* (Nea), folhas de *Achillea clavennae* (Neb) ou raízes de *Zingiber officinale* (Nec). Os tamanhos das gotículas variaram de 120,11 a 160,14 nm, com médias de $131,19 \pm 0,5$ nm para Nea, $125,30 \pm 1,74$ nm para Neb e $137,69 \pm 1,25$ nm para Nec. Avaliou-se o efeito das nanoemulsões na inibição do crescimento de *Klebsiella pneumoniae*, observando halos de inibição de $11 \pm 0,87$ mm para Nea, $14 \pm 0,07$ mm para Neb e $11 \pm 0,18$ mm para Nec.

Como parte do objetivo deste estudo, foi investigado a atividade antibacteriana do nanoemulgel contendo óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, utilizando o mesmo produto teste do estudo de estabilidade. Os parâmetros de tamanho de gotícula (SIZE) e índice de polidispersão (PDI) estão detalhados no item 5.2.4. Os resultados mostram que o nanoemulgel de *Eucalyptus staigeriana* apresentou um halo de inibição de 10 mm, demonstrando atividade antibacteriana eficaz contra a cepa *Klebsiella pneumoniae*. Conforme Bona *et al.* (2014), no teste de difusão em disco, um produto é considerado antibacteriano quando os halos de inibição têm diâmetro igual ou superior a 6 mm. Assim, o nanoemulgel cumpre esse critério, confirmando sua atividade antibacteriana.

Apesar do avanço nas pesquisas sobre nanogéis antibacterianos, poucos estudos se concentram nos que utilizam óleos essenciais contra *Klebsiella pneumoniae*. No entanto, investigações anteriores já demonstraram que formulações de nanogéis e hidrogéis com óleos essenciais e outros produtos naturais podem inibir o crescimento de várias bactérias patogênicas.

Eid *et al.* (2022) desenvolveram um nanoemulgel contendo óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e avaliaram suas atividades antibacterianas. O nanoemulgel foi formulado com óleo essencial de alecrim, Tween 80 e Span 80 como surfactantes, e uma base de gel com agentes gelificantes. Os testes *in vitro* mostraram halos de inibição significativos contra *Staphylococcus aureus* (20 mm), *Klebsiella pneumoniae* (19 mm), *Escherichia coli* (18 mm) e *Pseudomonas aeruginosa* (16 mm), indicando uma forte atividade antibacteriana.

De forma semelhante, Alsakhawy *et al.* (2022) obtiveram um hidrogel composto por caseinato e gelatina, utilizado para encapsular o óleo essencial de *Thymus vulgaris*, que apresentou atividade antibacteriana significativa *in vitro*, evidenciada pelos halos de inibição formados: *Staphylococcus aureus* (20 mm), *Escherichia coli* (18 mm), *Klebsiella pneumoniae* (19 mm) e *Pseudomonas aeruginosa* (16 mm).

Kamalah *et al.* (2023) avaliaram a eficácia de diferentes concentrações de gel de carvão de casca de coco (3%, 6% e 9%) na inibição do crescimento da bactéria *Klebsiella pneumoniae*. Os resultados mostraram que o gel com concentração de 3% foi o mais eficaz, apresentando uma média de zona de inibição de 85,12 mm². Em comparação, as concentrações de 6% e 9% apresentaram médias de 17,1 mm² e 30,69 mm², respectivamente. O controle positivo, utilizando ciprofloxacina, apresentou uma média de 304,82 mm², enquanto o controle negativo (DMSO) não mostrou nenhuma atividade inibitória.

Yahyaa *et al.* (2020) investigaram a eficácia antibacteriana de hidrogéis de Carbopol enriquecidos com óleos essenciais. A combinação de óleos essenciais de cravo, canela e melaleuca (1% a 3%) mostrou-se eficaz, com zonas de inibição variando de 18-23 mm para *Staphylococcus aureus*, 17-20 mm para *Escherichia coli* e 14-18 mm para *Pseudomonas aeruginosa*. A formulação final continha Carbopol Ultrez 21 (0,5% a 1%), glicerina (5%), etanol (10%) e trietanolamina para ajuste de pH.

Alam *et al.* (2022) pesquisaram um nanoemulgel com óleo essencial de erva-doce (*Foeniculum vulgare*) e sua atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*. O nanoemulgel, desenvolvido com nanopartículas de ácido polilático-co-glicólico (PLGA), tinha tamanho médio de partículas de $123,19 \pm 6,16$ nm e eficiência de encapsulação de $66,4 \pm 3,13\%$. Testes *in vitro* mostraram halos de inibição significativos contra *Staphylococcus aureus*, com medida de $23 \pm 1,15$ mm.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que:

- Em relação ao óleo essencial de *Eucalypto staigeriana*:
 - É composto principalmente por monoterpenos hidrogenados e oxigenados, como o geraniol, nerol, terpinoleno e geranato de metila como principais constituintes.
 - Apresentou forte atividade antibacteriana e efeito bacteriostático contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*.
 - Mostrou maior atividade antiaderente, na proporção de 1:2, em comparação com o controle positivo (digluconato de clorexidina 0,12%) sobre cepas de *K. pneumoniae*.
 - Foi identificado um efeito sinérgico mais pronunciado quando associado ao antibiótico Ciprofloxacino.

- Para os sistemas nanoemulsionados (nanoemulsão e nanoemulgel):
 - A nanoemulsão otimizada (15% de óleo, 10% de tensoativos e 75% de água, EHL12) apresentou propriedades físico-químicas e organolépticas satisfatórias, sendo a mais adequada para veicular o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*.
 - A nanoemulsão do óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* apresentou forte atividade antibacteriana e efeito bacteriostático frente as cepas de *Klebsiella pneumoniae*.
 - A nanoemulsão e o nanoemulgel mantiveram homogeneidade e estabilidade, com durabilidade de até 90 dias nas condições de preparo.
 - O nanoemulgel demonstrou atividade antibacteriana eficaz sobre cepas de *Klebsiella pneumoniae*.

Conclui-se que o óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana* e suas formulações em nanoemulsão e nanoemulgel demonstram eficaz ação antimicrobiana sobre cepas de *Klebsiella pneumoniae*, sendo promissores candidatos no desenvolvimento de novas tecnologias farmacêuticas.

REFERÊNCIAS

ABIODUN, Ajijolakewu Kamoldeen; NIKE, Ahmed Risikat; OLANIKE, Kazeem Muinat; OLAKUNLE, Otuyelu Frank; MOJISOLA, Abdulraheem Zulaikhat. Antibacterial Efficacy of *Eucalyptus* Essential Oil against Respiratory Infection Pathogens and Characterization of its Bioactive Compounds. **Journal of Pharmaceutical Research**, v. 23, n. 1, p. 61-67, 2024. DOI: 10.18579/jopcr/v23.1.8.

ABREU, Flávia Oliveira Monteiro da Silva; COSTA, Emanuela Feitoza; CARDIAL, Mayrla Rocha Lima; ANDRÉ, Weibson Pinheiro Paz. Polymeric nanoemulsions enriched with *Eucalyptus citriodora* essential oil. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 30, n. 2, e2020024, 2020. DOI: 10.1590/0104-1428.00920.

ADAK, Totan; BARIK, Nishant; PATIL, Naveenkumar Basanagouda; GOVINDHARAJ, Guru-Pirasanna-Pandi; GADRATAGI, Basana Gowda; ANNAMALAI, Mahendiran; MUKHERJEE, Arup Kumar; RATH, Prakash Chandra. Nanoemulsion of *eucalyptus* oil: An alternative to synthetic pesticides against two major storage insects (*Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst)) of rice. **Industrial Crops and Products**, v. 143, p. 111849, 2020. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111849.

ADAMS R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4^a. ed., Illinois: Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 2007.

AGRAWAL, Mohit; RAO, Komal; SINGHAL, Manmohan; CHAUDHARY, Hema. Essential Oil: Its Chemistry, Biochemistry and Application. **The Chemistry inside Spices & Herbs: Research and Development**, v. 4, p. 157-174, 2024. DOI: 10.2174/9789815196832124040009.

AHMAD, Irfan; FARHEEN, Ms; KUKRETI, Ashish; AFZAL, Obaid; AKHTER, Md Habban; CHITME, Havagiray; VISHT, Sharad; ALFAWAZ ALTAMIMI, Abdulmalik Saleh; ALOSSAIMI, Manal A.; ALSULAMI, Ebtisam R.; JAREMKO, Mariusz; EMWAS, Abdul-Hamid. Natural Oils Enhance the Topical Delivery of Ketoconazole by Nanoemulgel for Fungal Infections. **ACS Omega**, v. 8, n. 31, p. 1–16, 2023. DOI: 10.1021/acsomega.3c01571.

AL-ASMARI, Fahad; KOIRALA, Pankaj; NIRMAL, Nanditha; *et al.* Antimicrobial Activity of Formulated Origanum and Thyme Essential Oil Nanoemulsions - A Comparative Study. **Current Nutrition & Food Science**, v. 19, n. 1, 2023. DOI: 10.2174/1573401319666230914140953.

ALBARRI, Osman; ALMATAR, Manaf; VAR, Işil; KÖKSAL, Fatih. Antimicrobial Resistance of Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolates: Involvement of AcrAB and OqxAB Efflux Pumps. **Current Molecular Pharmacology**, v. 17, 2024. DOI:10.2174/1874467217666230331081434.

ALBUQUERQUE, Ana Carolina Lyra de; PEREIRA, Maria do Socorro Vieira; PEREIRA, Jozinete Vieira; PEREIRA, Luciana Filgueira; SILVA, Daniel Furtado; MACEDO-COSTA, Maria Regina; HIGINO, Jane Sheila. Efeito antiaderente do extrato

da *Matricaria recutita* Linn. sobre microorganismos do biofilme dental. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 39, n. 1, p. 21-25, 2010.

ALDAHLAWI, Alia M.; BIN SIDDIK, Ghaida S.; ALY, Magda M. Antimicrobial Activities of *Coriandrum sativum*, *Anethum graveolens* and *Linum usitatissimum* Essential Oil-Nanoemulsions for Use as Alternatives Food Preservative. **Bioscience Biotechnology Research Communications**, v. 15, n. 1, 2022. DOI: 10.21786/bbrc/15.1.28.

ALHAKAMY, Nabil A.; KOTTA, Sabna; SHAIK, Rasheed A.; EID, Basma G.; ALI, Javed; ALAM, Md Shoaib; HOSNY, Khaled M.; RIADI, Yassine; ASFOUR, Hani Z.; ASHY, Noha; SHADAB, Md. Formulation Development, Statistical Optimization, In Vitro and In Vivo Evaluation of Etoricoxib-Loaded *Eucalyptus* Oil-Based Nanoemulgel for Topical Delivery. **Applied Sciences**, v. 11, n. 16, p. 7294, 2021. DOI: 10.3390/app11167294.

ALHASSO, Bahjat; GHORI, Muhammad Usman; CONWAY, Barbara R. Development of Nanoemulsions for Topical Application of Mupirocin. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, p. 378, 2023. DOI: 10.3390/pharmaceutics15020378.

ALIPANAH, Hiva; ABDOLLAHI, Abbas; FIROOZIYAN, Samira; ZARENEZHAD, Elham; JAFARI, Mojtaba; OSANLOO, Mahmoud. Nanoemulsion and Nanogel Containing *Eucalyptus globulus* Essential Oil; Larvicidal Activity and Antibacterial Properties. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2022, p. 1–9, 2022. DOI: 10.1155/2022/1616149.

AL ISMAIL, Dania; CAMPOS-MADUENO, Edgar I.; DONÀ, Valentina; ENDIMIANI, Andrea. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (hvKp): Overview, Epidemiology, and Laboratory Detection. **Pathogens & Immunity**, v. 10, n. 1, p. 80-119, 2025. DOI: 10.20411/pai.v10i1.777.

AL-QAYSI, Al Moghira Khairi; AL-OUQAILI, Mushtak T. S.; AL-MEANI, Safaa A. L. Ciprofloxacin- and gentamicin-mediated inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms is enhanced when combined with the volatile oil from *Eucalyptus camaldulensis*. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 11, n. 7, p. 98-105, 2020. DOI: 10.31838/srp.2020.7.15.

ALAM, Aftab; FOUDAH, Ahmed I.; SALKINI, Mohammad A.; RAISH, Mohammad; SAWALE, Jyotiram. Herbal fennel essential oil : Formulation, characterization and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. **Gels**, v. 8, n. 11, p. 736, 2022. DOI: 10.3390/gels8110736.

AL-MASOUDI, Karrar Issa Agool; AL-JANABI, Hayder Shkhair Obayes; AL-MOUSAWI, Haider Turkey Mousa. Isolation and Characterization of *Klebsiella pneumoniae* from Urinary Tract Infections: A Comparative Study of Diagnostic Methods. **SAR Journal of Pathology and Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 1-7, 2025. DOI: <https://doi.org/10.36346/sarjpm.2025.v06i01.001>.

ALSAKHAWY, Sara A.; BAGHDADI, Hoda H.; EL-SHENAWY, Moustafa A.; EL-HOSSEINY, Lobna S. Encapsulation of *Thymus vulgaris* essential oil in caseinate/gelatin nanocomposite hydrogel: In vitro antibacterial activity and in vivo wound healing potential. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 628, p. 122280, 2022. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2022.122280

AMASHA, Reda H. Inhibition of some multidrug-resistant bacteria using prepared essential oil nanoemulsion formulas and their mode of action. **Journal of Contemporary Medical Sciences**, v. 10, n. 2, p. 142–149, mar.–abr. 2024. DOI: 10.22317/jcms.v10i2.2024.

AMRI, Ismail; KHAMMASSI, Marwa; BEN AYED, Rayda; KHEDHRI, Sana; BEN MANSOUR, Manel; KOCHTI, Oumayma; PIERACCI, Ylenia; FLAMINI, Guido; MABROUK, Yassine; GARGOURI, Samia; HANANA, Mohsen; HAMROUNI, Lamia. Essential Oils and Biological Activities of *Eucalyptus falcata*, *E. sideroxylon* and *E. citriodora* Growing in Tunisia. **Plants**, v. 12, n. 4, p. 816, 2023. DOI: 10.3390/plants12040816.

AMIRI-RIGI, Atefeh; ABBASI, Soleiman; EMMAMBUX, Mohammad Naushad. Background, Limitations, and Future Perspectives in Food Grade Microemulsions and Nanoemulsions. **Food Reviews International**, v. 39, n. 6, p. 1-39, 2022. DOI: 10.1080/87559129.2022.2059808.

AMORIM, Vanessa da Silva Santos de; MONTEIRO, Kalindy Maressa Soares; SOUSA, Geslanny Oliveira; DAMASCENA, Jossimara Ferreira; PEREIRA, Juliana Andrade; MORAES, Wendel dos Santos. Os benefícios ambientais do plantio de eucalipto: revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, 2021. DOI: e318101119604

BARBOSA, Deyzi Caroline da Silva; SILVA, Welson Vicente da; CORREIA, M. Atividade Antioxidante de Óleos Essenciais da Família *Myrtaceae* pelo Método de DPPH: Uma Revisão de Literatura. **Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, João Pessoa, v. 19, n. 2, p. 121-139, 2019. DOI: 10.1590/S1517-31512019000200007.

BARIZ, K.; TRABELSI, L.; LAHCENE, S.; SALEM-BEKHIT, M. M.; ELOSSAILY, G. M.; ALZAHIRANI, H. A.; ALHARBI, O. O.; ABBACI, M.; ABBACI, H.; BENGUERBA, Y.; HOUALI, K. Evaluating the Synergistic Potency of Essential Oils and Antibiotics Against *Klebsiella pneumoniae* BLSE Strains. **Cellular and Molecular Biology**, v. 69, n. 3, p. 198-206, 2023. DOI: 10.14715/cmb/2023.69.3.29.

BAUER, A. W. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 149-158, 1966.

BEKTAŞ, Serdar; ÖZDAL, Murat. Antibacterial activity of *eucalyptus* (*Eucalyptus camaldulensis*) essential oil against fish pathogen bacterium, *Aeromonas caviae*. **Marine Science and Technology Bulletin**, v. 11, n. 4, p. 467-474, 2022. DOI: <https://doi.org/10.33714/masteb.1184165>

BEZERRA, Thaynara Paula Warren; BANDEIRA, Ana Rosa Galdino; LIMA, Salatiel Henrique Pereira de; ANDRADE, Priscyla Lima de. A nanotecnologia aplicada ao desenvolvimento de fármacos: revisão integrativa da literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, e99111436115, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i14.36115.

BIZZO, Humberto R.; REZENDE, Claudia M. O Mercado de Óleos Essenciais no Brasil e no Mundo na Última Década. **Química Nova**, v. 45, n. 8, p. 949-958, 2022. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170889>.

BONA, Eliana Almeida Mira de; PINTO, Fabiana Gisele da Silva; FRUET, Thomas Kehrwald; JORGE, Tereza Cristina Marinho; MOURA, Alexandre Carvalho de. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 3, p. 1-10, jul.-set. 2014. DOI: 10.1590/1808-1657001192012.

BOUGUENOUN, Widad; BENBELAID, Fethi; MEBARKI, Salsabil; BOUGUENOUN, Imane; BOULMAIZ, Sara; KHADIR, Abdelmonaim; BENZIANE, Mohammed Yassine; BENDAHOU, Mourad; MUSELLI, Alain. Selected antimicrobial essential oils to eradicate multi-drug resistant bacterial biofilms involved in human nosocomial infections. **Biofouling**, v. 39, n. 8, p. 816-829, 2023. DOI: 10.1080/08927014.2023.2269551.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. 1ª ed. Brasília: ANVISA, 2004, 52p. [<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/cosmeticos/manuais-e-guias/guia-de-estabilidade-de-cosmeticos.pdf/view>].

BRÜSSOW, Harald. The antibiotic resistance crisis and the development of new antibiotics. **Microbial Biotechnology**, v. 17, n. 7, p. 1-10, 2024. DOI: 10.1111/1751-7915.14510.

BUSINESS RESEARCH INSIGHTS. Essential Oil & Aromatherapy Market Size, Share, Growth, and Industry Analysis by Type, Application, and Region to 2032. 2023. Disponível em: <<https://www.businessresearchinsights.com/pt/market-reports/essential-oil-aromatherapy-market-105968>>. Acesso em: 11 mar. 2024.

CABI. *Eucalyptus staigeriana*. CABI Compendium, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1079/cabicompendium.22434>>. Acesso em: 20 abr. 2025.

CANBR. *Eucalyptus staigeriana*. 2020. Disponível em: https://apps.lucidcentral.org/euclid/text/entities/eucalyptus_staigeriana.htm. Acesso em: 29 jan. 2025.

CHAUHAN, Sandhya; SHEKHAR, Ravi; TIWARI, Brijesh Kumar. Bioavailability enhancement and characterization of poorly water-soluble drug. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 15, n. 11, p. 3182-3189, 2024. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.15(11).3182-89.

CHEN, Ying; ZHAO, Jinda; LIU, Chenyu; WU, Dongmei; WANG, Xianhe. In-vitro antibacterial activity and mechanism of *Monarda didyma* essential oils against Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. **BMC Microbiology**, v. 23, artigo 263, 2023. DOI: 10.1186/s12866-023-03015-4.

CHEN, T.A.; CHUANG, Y.T.; LIN, C.H. A decade-long review of the virulence, resistance, and epidemiological risks of *Klebsiella pneumoniae* in ICUs. **Microorganisms**, v. 12, n. 12, p. 2548, 2024. DOI: 10.3390/microorganisms12122548.

CHERUVANACHARI, Priya; PATTNAIK, Subhaswaraj; MISHRA, Monika; PRAGYANDIPTA, Pratyush; NAIK, Pradeep K. Terpinen-4-ol, an active constituent of Kewda essential oil, mitigates biofilm forming ability of multidrug resistant *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of Biologically Active Products from Nature**, v. 12, n. 5, p. 406-420, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/22311866.2022.2154264>

CHIME, S. A.; KENECHUKWU, F. C.; ATTAMA, A. A. Nanoemulsions — Advances in Formulation, Characterization and Applications in Drug Delivery. In: SEZER, A. D. (Ed.). Application of Nanotechnology in Drug Delivery. **IntechOpen**, 2014. DOI: 10.5772/58673.

CHOPADE, Swapnil S.; GAIKWAD, Esther; PATIL, Nikhil; MANJAPPA, Arehalli; DISOUZA, John. Development of Topical Nanogel as a Promising Delivery of NSAID's Tenoxicam using Natural Permeation Enhancer Essential Oil (Eucalyptus). **Asian Journal of Pharmacy and Technology**, v. 12, n. 4, p. 299–304, 2022. DOI: 10.52711/2231-5713.2022.00048.

CHOWDHURY, Sailee; KAR, Koyel; MAZUMDER, Rana. Exploration of Different Strategies of Nanoencapsulation of Bioactive Compounds and Their Ensuing Approaches. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 1, p. 72, 2024. DOI: 10.1186/s43094-024-00644-y.

CLEELAND, R.; SQUIRES, E.; LORIAN, V. Antibiotics in laboratory medicine. Willians. & Wikins, 1991.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Fourth International Supplement. CLSI document M27-4. 2012.

CORDEIRO, L. V.; FIGUEIREDO, P. T. R.; SOUSA, A. P.; ANDRADE JÚNIOR, F. P.; SOUZA, H. D. S.; ARAÚJO, D. L.; SOBREIRA, A. L. C.; LIMA, E. O. Associação do carvacrol com ceftazidima e cefepima contra *Klebsiella pneumoniae*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, e264974089, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i7.4089.

CORREA, Marcos Saldanha; FRAZZON, Jeverson; SCHWAMBACH, Joseli; MANN, Michele Bertoni; FRAZZON, Ana Paula Guedes. Antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil from dried leaves of *Eucalyptus staigeriana*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 86, p. 1-8, 2019. DOI: 10.1590/1808-1657000202018.

COTTET, Jonathan; OSHODI, Josephine O.; YEBOUET, Jesse; LEANG, Andrea; FURST, Ariel L.; BUIE, Cullen R. Zeta potential characterization using commercial microfluidic chips. **Lab on a Chip**, v. 24, n. 2, p. 354-366, 2023. DOI: 10.1039/D3LC00825H.

CRUZ, Igor Luiz Souza da; PIMENTEL, Marco Aurélio Guerra; BARBOSA, Tatiane Aparecida Nascimento; ALVES, Simone Pereira; MALECK, Marise; QUEIROZ, Margareth Maria de Carvalho. Larvicidal activity and chemical composition of four essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, 2024. DOI: 10.1590/1519-6984.283724.

CRUZ, P. S. C.; OLIVEIRA FILHO, A. A.; SOARES, A. M.; OLIVEIRA, S. B.; ARAÚJO, J. B. B. Avaliação do efeito antibacteriano do óleo essencial de *Juniperus communis* associado à cefalotina e à ampicilina contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. **Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro**, v. 4, n. 1, 2024. DOI: 10.61164/rmnm.v4i1.2280.

DAKHLAOUI, Sarra; BOURGOU, S.; KALAI, Zar; HAMMAMI, M.; ESSAFI, M.; JALLOULI, S.; MSAADA, K. Essential oil and its nanoemulsion of *Eucalyptus cladocalyx*: chemical characterization, antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 34, n. 8, p. 2899-2912, 2023. DOI: 10.1080/09603123.2023.2280119.

DENISSEN, Julia; REYNEKE, Brandon; WASO-REYNEKE, Monique; HAVENGA, Benjamin; BARNARD, Tobias; KHAN, Sehaam; KHAN, Wesaal. Prevalence of ESKAPE pathogens in the environment: Antibiotic resistance status, community-acquired infection and risk to human health. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 244, p. 114006, 2022. DOI: 10.1016/j.ijheh.2022.114006.

DINIZ, A. F.; SANTOS, B.; NÓBREGA, L. M. M. O.; SANTOS, V. R. L.; MARIZ, W. S.; CRUZ, P. S. C.; NÓBREGA, R. O.; SILVA, R. L.; PAULA, A. F. R.; SANTOS, J. R. D. A.; PESSÔA, H. L. F.; OLIVEIRA-FILHO, A. A. Antibacterial activity of *Thymus vulgaris* (thyme) essential oil against strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus saprophyticus* isolated from meat product. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, 2023. DOI: 10.1590/1519-6984.275306.

EBRAHIMZADEH, Ailin; AMANI, Amir. The effect of ingredients' concentration on nanoemulsion particle size of *eucalyptus* essential oil. **Indian Journal of Natural Products and Resources**, v. 13, n. 4, p. 559-564, 2022. DOI: 10.56042/ijnpr.v13i4.49543.

EID, A.; JARADAT, N.; ZAROOUR, Abdalraziq; *et al.* Evaluation of anticancer, antimicrobial, and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil and its nanoemulgel. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 54, p. 102175, 2022. DOI: 10.1016/j.eujim.2022.102175.

ELANGO VAN, Shakthi; MUDGIL, Poonam. Antibacterial Properties of *Eucalyptus globulus* Essential Oil against MRSA: A Systematic Review. **Antibiotics**, v. 12, n. 3, p. 474, 2023. DOI: 10.3390/antibiotics12030474.

EL SHIEKH, Riham A.; ATWA, Ahmed M.; ELGINDY, Ali M.; MUSTAFA, Aya M.; SENNA, Mohamed Magdy; ALKABBANI, Mahmoud Abdelrahman; IBRAHIM, Kawther Magdy. Therapeutic applications of eucalyptus essential oils. **Inflammopharmacology**, v. 33, n. 2, p. 163-182, 2025. DOI: 10.1007/s10787-024-01588-8.

EL-SHERBINY, G.; KALABA, Mohamed H.; EL-FAKHARANY, E., *et al.* Nanoemulsion of cinnamon oil to combat colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* and cancer cells. **Microbial Pathogenesis**, v. 178, 106705, 2024. DOI: 10.1016/j.micpath.2024.106705.

ESTEVEES, Franciele Mylena; ECKER, Alessandra Barrochelli da Silva. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* em cepas padrão de bacilos gram-negativos. **Revista UNINGÁ**, v. 57, n. 1, p. 11-23, jan./mar. 2020. DOI: doi.org/10.46311/2318-0579.57.1.011-023

FADEEVA, T. V.; NEVEZHINA, A. V. New strategies for the treatment of infections caused by biofilm-producing *Klebsiella pneumoniae*. **Acta Biomedica Scientifica**, v. 9, n. 6, p. 63-75, 2024. DOI:10.29413/abs.2024-9.6.7.

FADEL, Balqis A.; ELWAKIL, Bassma H.; FAWZY, Esraa E.; SHAABAN, Marwa M.; OLAMA, Zakia A. Nanoemulsion of *Lavandula angustifolia* Essential Oil/Gold Nanoparticles: Antibacterial Effect Against Multidrug-Resistant Wound-Causing Bacteria. **Molecules**, v. 28, n. 19, p. 6988, 2023. DOI: 10.3390/molecules28196988.

FENGHOUR, H.; BOUABIDA, H.; DRIS, D.; HOUHAMDI, M. Antibacterial effect of essential oils of two plants *Eucalyptus camaldulensis* and *Artemisia herba alba* on some bacterial strains. **Biosystems Diversity**, v. 29, n. 2, p. 73-77, 2021. DOI:10.15421/012110.

FREITAS, Lucília Aquino; OLIVEIRA, Thaísa Cardoso de. Atividade anti-inflamatória dos óleos essenciais de três espécies de Lamiaceae: uma revisão de literatura. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, [S.l.], v. 22, n. 1, p. 70-78, 2020.

GILLES, Martin; ZHAO, Jian; AN, Min; AGBOOLA, Samson. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian Eucalyptus species. **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 731-737, 2010. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.021

GIONGO, Janice Luehring; VAUCHER, Rodrigo de Almeida; OURIQUE, Aline Ferreira; STEFFLER, Míriam Carine Ribeiro; FRIZZO, Clarissa Piccinin; HENNEMMAN, Bruno; SANTOS, Roberto Christ Vianna; LOPES, Leonardo Quintana Soares; RECH, Virginia Cielo; NISHIHARA, Vivian Shinobu Kishimoto; RAFFIN, Renata Platcheck; GOMES, Patrícia; STEPPE, Martin. Development of nanoemulsion containing *Pelargonium graveolens* oil: characterization and stability study. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 12, p. 271-276, 2016. DOI: 10.22159/ijpps.2016v8i12.15108.

GODOI, Samantha Nunes de; QUATRIN, Priscilla Maciel; SAGRILLO, Michele Rorato; NASCIMENTO, Kátia; WAGNER, Roger; KLEIN, Bruna; SANTOS, Roberto Christ

Vianna; OURIQUE, Aline Ferreira. Evaluation of Stability and In Vitro Security of Nanoemulsions Containing *Eucalyptus globulus* Oil. **BioMed Research International**, v. 2017, p. 1–10, 2017. DOI: 10.1155/2017/2723418.

GUERRA, Felipe Queiroga Sarmiento *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of *Cinnamomum zeylanicum* Blume essential oil on multi-drug resistant *Acinetobacter* spp. strains. **Biofar**, v. 8, n. 1, p. 62-70, 2012.

HADŽIABDIĆ, Jasmina; ORMAN, Džana; ELEZović, Alisa; VRANIĆ, Edina; RAHIĆ, Ognjenka. Preparation of Nanoemulsions by High-Energy and Low-Energy Emulsification Methods. In: **BADNJEVIĆ, Almir (Ed.)**. CMBEBIH 2017. IFMBE Proceedings, vol. 62. Springer, Singapore, 2017. DOI: 10.1007/978-981-10-4166-2_48.

HAFIDH, Rand R. *et al.* Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. **The open microbiology journal**, v. 5, p. 96, 2011. DOI: <https://doi.org/10.2174/1874285801105010096>.

HASANI, Alka; SOLTANI, Elghar; REZAEI, Mohammad Ahangarzadeh; PIRZADEH, Tahereh; OSKOUIE, Mahin Ahangar; HASANI, Akbar; GHOLIZADEH, Pourya; OSKOUIE, Arezoo Noie; BINESH, Ehsan. Serotyping of *Klebsiella pneumoniae* and Its Relation with Capsule-Associated Virulence Genes, Antimicrobial Resistance Pattern, and Clinical Infections: A Descriptive Study in Medical Practice. **Infection and Drug Resistance**, v. 2020, p. 1971-1980, 2020. DOI: 10.2147/IDR.S243984.

HE, Meirong; LI, Haoyang; ZHANG, Zhenxing; JIANG, Junming; LI, Hong; YANG, Weijie; CHENG, Yiwen; GAO, Hongyan; CHEN, Qiaoling; DU, Li; CHEN, Si; MAN, Churiga; WANG, Fengyang. Microbiological Characteristics and Pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Hainan Black Goat. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 9, p. 471, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci909047>.

HENDRY, E.; WORTHINGTON, T.; LAMBERT, P. Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1,8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 64, n. 6, p. 1219-1225, 2009. DOI: 10.1093/jac/dkp362.

HUANG, Zhaoyu; ZHAI, Zhiyong; ZHOU, Ping; LI, Wanjun; HU, Wei; GONG, Wei. Antimicrobial Resistance and New Antimicrobial Agents, A Review of the Literature. **Current Medicinal Chemistry**, v. 31, 2024. DOI: 10.2174/0109298673306699240614112615.

ISEPPI, Ramona; CONDÒ, Carla; MESSI, Patrizia. Synergistic Inhibition of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by *Melaleuca alternifolia* Chell (Tea Tree) and *Eucalyptus globulus* Labill. Essential Oils in Association with Oxacillin. **Antibiotics**, v. 12, n. 5, p. 846, 2023. DOI: 10.3390/antibiotics12050846.

IVANOVA, Stanislava; *et al.* Essential oils – a review of the natural evolution of applications and some future perspectives. **Pharmacia**, v. 72, p. 1-12, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3897/pharmacia.72.e140059>

KAMALAH, Siti Rahmah; KURNIAWAN; MULYANTO, Arif; DHANTI, Kurnia Ritma. Pembuatan Sediaan Gel Arang Tempurung Kelapa Dan Uji Daya Hambat Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. **Borneo Journal of Medical Laboratory Technology**, v. 6, n. 1, p. 410–419, 2023. DOI: <https://doi.org/10.33084/bjmlt.v6i1.6082>.

KAUR, N.; KOCHER, D. K.; SIDHU, A. Synthesis and Testing of Eucalyptus globulus Oil-Based Nanoemulsion for Its Larvicidal Potential Against *Aedes aegypti*. **African Entomology**, v. 27, n. 2, p. 433-438, 2019. DOI:10.4001/003.027.0433.

KUMARI, Shweta; LAKHANPAL, Ankita; RAGHAV, Vijay; MALIK, Ritu. Therapeutic and Pharmacological Applications of Essential Oils in Skin Care and Aromatherapy: Benefits, Mechanisms, and Safety Considerations. **International Journal For Multidisciplinary Research**, v. 13, n. 8, p. 1-15, 2024.

KYRIAKOUDI, Anastasia; SPANIDI, Eleni; MOURTZINOS, Ioannis; GARDIKIS, Konstantinos. Innovative Delivery Systems Loaded with Plant Bioactive Ingredients: Formulation Approaches and Applications. **Plants**, v. 10, n. 6, p. 1238, 2021. DOI: 10.3390/plants10061238.

LEÃO, Júlia; KLAFKE, Arlete Teresinha; SOARES, Jocelene. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade físico-química de formulações fitocosméticas de uso tópico contendo óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel. Myrtaceae). **Revista Fitos**, v. 16, n. 4, p. 443-455, 2022. DOI: 10.32712/2446-4775.2022.1352.

LI, Dar-Yin *et al.* *Myrtus communis* L. Essential Oil Exhibits Antiviral Activity against Coronaviruses. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 9, p. 1189, 2024. DOI: 10.3390/ph17091189.

LI, Shuangshuang; FENG, Xudong; LI, Min; SHEN, Zhen. In vivo adaptive antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae* during antibiotic therapy. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1159912

LI, Xu; LI, Jiayang; WU, Wenqi; WU, Xiuwen; REN, Jianan. *Klebsiella pneumoniae* capsular polysaccharide: Mechanism in regulation of synthesis, virulence, and pathogenicity. **Virulence**, v. 15, n. 1, p. 1-10, 2024. DOI: 10.1080/21505594.2024.2439509.

LOPES, Brenda Alves; BOSCARDIN, Patrícia Döll; CAMPOS, Patrícia Mazureki. Development and Characterization of Nanoemulsion Containing Volatile Oil of *Matricaria recutita* L. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, edição especial, e23230576, 2023. DOI: 10.1590/1678-4324-ssbfar-2023230576.

LU, Wen-Chien; HUANG, Da-Wei; WANG, Chiun-C.R.; YEH, Ching-Hua; TSAI, Jen-Chieh; HUANG, Yu-Ting; LI, Po-Hsien. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of nanoemulsions incorporating citral essential oil. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, n. 1, p. 82–89, 2018. DOI: 10.1016/j.jfda.2016.12.018.

MAHDI, Dunya Talib. Exploring the Ecological Distribution and Antibiotic Resistance Profiles of *Klebsiella* Species in Diverse Environmental Niches. **European Journal of Medical Genetics and Clinical Biology**, v. 1, n. 5, p. 169-178, 2024. DOI:10.61796/jmgcb.v1i5.485.

MCCLEMENTS, David Julian. Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, n. 7, p. 611-649, 2007. DOI: 10.1080/10408390701289292.

MENG, Lingning; LIU, Ziyao; LIU, Chang; LI, Chuchu; SHEN, Han; CAO, Xiaoli. The distribution characteristics of global blaOXA-carrying *Klebsiella pneumoniae*. **BMC Infectious Diseases**, v. 23, n. 182, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08156-5>.

MESQUITA, Mayara de Aquino; SILVA JÚNIOR, João Batista e; PANASSOL, Andressa Machado; OLIVEIRA, Erick Falcão de; VASCONCELOS, Ana Lourdes Camurça Fernandes; BEVILAQUA, Claudia Maria Leal. Anthelmintic activity of *Eucalyptus staigeriana* encapsulated oil on sheep gastrointestinal nematodes. **Parasitology Research**, v. 112, n. 9, p. 3161-3165, 2013. DOI: 10.1007/s00436-013-3492-2.

MIHAI, Daniela-Cristina; DIȚU, Lia-Maria; GHEORGHE, Irina; BANU, Otilia; GEORGESCU, Mihaela; MIHĂESCU, Grigore. Investigation of the antibiofilm activity of some spices and medicinal plants essential oils. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 13, n. 4, p. 301, 2023. DOI: <https://doi.org/10.33263/BRIAC134.301>

MITRI, Sara Elias. Effect of *Cinnamomum zeylanicum* and *Origanum onites* on the growth and biofilm forming ability of ESBL and non-ESBL producing *Klebsiella pneumoniae*. Tese Lebanese American University, 2020. DOI: 10.26756/th.2022.323.

MOGES, Getaneh Worku; MANAHELOHE, Gizachew Mulugeta; ASEGIE, Melese Ababay. Phenolic, Flavonoid Contents, Antioxidant, and Antibacterial Activity of Selected *Eucalyptus* Species. **Preprints**, v. 2024, n. 3, p. 370-383, mar. 2024. DOI:10.20944/preprints202403.1427.v1.

MOHAMED, S. H.; MOHAMED, M. S. M.; KHALIL, M. S.; AZMY, M.; MABROUK, M. I. Combination of essential oil and ciprofloxacin to inhibit/eradicate biofilms in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 1, p. 84-95, 2018. DOI: 10.1111/jam.13755.

MOHAMMED, Tahany G. M.; NASR, M. E. H. Preparation, Characterization and Biological Efficacy of *Eucalyptus* Oil Nanoemulsion Against the Stored Grain Insects. **Asian Journal of Advances in Agricultural Research**, v. 13, n. 2, p. 41–51, 2020. DOI: 10.9734/ajaar/2020/v13i230102.

MONTEIRO, Erika da Silva; SILVA, Franklyn Santos da; GOMES, Karolina Oliveira; PRADO, Bruno Alcântara do; SANTOS, Rebeca Dias dos; CAMARA, Claudio Augusto Gomes da; MORAES, Marcilio Martins de; SILVA, Izabel Cristina Rodrigues da; MACÊDO, Vinicius Teixeira de; GELFUSO, Guilherme Martins; BARRETO, Livia Cristina Lira de Sá; ORSI, Daniela Castilho. Characterization and determination of the antibacterial activity of *Baccharis dracunculifolia* essential-oil nanoemulsions. **Antibiotics**, v. 12, n. 12, p. 1677, 2023. DOI: 10.3390/antibiotics12121677.

NAGAR, Lokesh; SAINI, Annu; GANDHI, Litasha; AWASTHI, Rajendra; DUA, Kamal; DUREJA, Harish. Nanoemulsion-Based Nystatin Delivery: Formulation and Characterization Studies. **BioNanoScience**, v. 15, n. 121, 2025. DOI: 10.1007/s12668-024-01774-6.

NATH, Pinku Chandra; *et al.* Essential oils and their critical implications in human use. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 60, p. 103258-103258, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103258>

NCUBE, N. S.; AFOLAYAN, A. J.; OKOH, A. I. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. **African journal of biotechnology**, v. 7, n. 12, 2008. DOI: 10.5897/AJB07.613

NICOLOFF, Hervé; HJORT, Karin; ANDERSSON, Dan I.; WANG, Helen. Three concurrent mechanisms generate gene copy number variation and transient antibiotic heteroresistance. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, p. 3981, 2024. DOI: 10.1038/s41467-024-48233-0.

NIRMAL, N.; MEREDDY, R.; SULTANBAWA, Y. Formulation, characterisation and antibacterial activity of lemon myrtle and anise myrtle essential oil in water nanoemulsion. **Food Chemistry**, 2018. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.01.173.

NÓBREGA, L. M. M. de O.; ARAÚJO, F. S. M. de; NÓBREGA, H. K. da C.; RIBEIRO, A. B. B. G.; FERNANDES, V. D. G.; SANTOS, V. R. L.; OLIVEIRA, S. B. de; CRUZ, P. de S. C. da; SOARES, A. de M.; SILVA, E. V. A. da; ROCHA, L. E.; GURGEL FILHO, A. T.; OLIVEIRA, V. T. de; ANJOS, R. M. dos; OLIVEIRA FILHO, A. A. de. Evaluation of the Antibacterial Activity of Gaultheria procumbens Essential Oil Against *Klebsiella pneumoniae* Strains. **European Journal of Medical and Health Sciences**, v. 5, n. 6, 2023. DOI: <https://doi.org/10.24018/ejmed.2023.5.6.1930>

NOLÊTO, Letícia Cavalcante; SILVA, E.; ARAUJO, K. D. S.; FERREIRA, D.; AMARAL, F. M. M.; NUNES, J. F.; CARDOSO, J.; PAULA, N.; VIEIRA, R. J. Caracterização do efeito cicatrizante do óleo de eucalipto (*Eucalyptus radiata*) em feridas dermatológicas. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e2761122948, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i2.2948.

OLIVEIRA, Rinalda A. Guerra de; LIMA, Edeltrudes O.; VIEIRA, Wellington L.; FREIRE, Kristerson R. Luna; TRAJANO, Vinicius N.; LIMA, Igará O.; SOUZA, Evandro L.; TOLEDO, Manuella S.; SILVA-FILHO, Raimundo N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 77-82, mar. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000100014>.

OMIDIAN, Hossein; CUBEDDU, Luigi X.; GILL, Erma J. Harnessing Nanotechnology to Enhance Essential Oil Applications. **Molecules**, v. 30, n. 3, p. 520-520, 2025. DOI: 10.3390/molecules30030520.

OSMAN, Einas; EL-AMIN, Nagwa; ADREES, Emad A. E.; AL-HASSAN, Leena; MUKHTAR, Maowia. Comparing conventional, biochemical and genotypic methods for

accurate identification of *Klebsiella pneumoniae* in Sudan. **Access Microbiology**, v. 2, n. 3, 2020. DOI: 10.1099/acmi.0.000096.

OSTROSKY, Elissa A.; MIZUMOTO, Miriam K.; LIMA, Marcos E. L.; KANEKO, Telma M.; NISHIKAWA, Suzana O.; FREITAS, Beatriz R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, jun. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200026>

PALOMINO, Juan-Carlos *et al.* Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

PASCUAL-MATHEY, L.; BRIONES-CONCHA, J.; PASCUAL-PINEDA, L. A.; *et al.* Elaboration of essential oil nanoemulsions of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its effect on liver injury prevention. **Food and Bioproducts Processing**, 2022. DOI: 10.1016/j.fbp.2022.04.006.

PEDROTTI, C.; FRANZOI, C.; ROSA, M. T. S.; TRENTIN, T. R.; VILASBOA, J.; SCARIOT, F. J.; ECHEVERRIGARAY, S. L.; SCHWAMBACH, J. Antifungal activity of essential oil from *Eucalyptus staigeriana* against *Alternaria alternata* causing of leaf spot and black rot in table grapes. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, n. 2, 2022. DOI: 10.1590/0001-376520220200394.

PEDROTTI, Carine; TRENTIN, Tayná Ribeiro; CAVIÃO, Hélien Corso; VILASBOA, Johnatan; SCARIOT, Fernando Joel; ECHEVERRIGARAY, Sergio; PIEMOLINI-BARRETO, Luciani Tatsch; SCHWAMBACH, Joséli. *Eucalyptus staigeriana* essential oil in the control of postharvest fungal rots and on the sensory analysis of grapes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 57, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2022.v57.02782>.

PEREIRA, Adriana Soares; SHITSUKA, Dorlivete Moreira; PARREIRA, Fabio José; SHITSUKA, Ricardo. **Metodologia da pesquisa científica**. Santa Maria: UAB/NTE/UFSM, 2021.

PEREIRA, Eduarda de Ávila; PUTON, Bruna Maria; CAMARGO, Sabrina Duarte; DORI, Gabriel; CANSIAN, Rogério L.; PAROUL, Natalia. Síntese e avaliação das atividades biológicas do galato de geranila e seus precursores. In: VII ENCONTRO DE DESENVOLVIMENTO DE PROCESSOS AGROINDUSTRIAIS, 2023, Uberaba. Anais [...]. Universidade de Uberaba, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Instituto Federal do Triângulo Mineiro, 2023.

PRADO, Júlio César Sousa; PRADO, Guilherme Mendes; AGUIAR, Francisca Lidiane Linhares; NEVES, Andrea Maria; NASCIMENTO, Joice Farias do; ABREU, Flávia Oliveira Monteiro da Silva; FONTENELLE, Raquel Oliveira dos Santos. Nanoemulsions of plant-based bioactive compounds with antimicrobial applications: a review. **Ciência e Natura**, v. 46, e74325, 2024. DOI: 10.5902/2179460X74325.

PUTRI, Alza Izmuliana Eka; ARIYANTO, Hermawan Dwi. Effect of Hydrophilic-Lipophilic Balance (HLB) Value on the Stability of Cosmetic Lotion Based on Walnut Oil (*Canarium Indicum* L.) Oil-in-Water Emulsion. **Journal of Vocational Studies on Applied Research**, v. 4, n. 2, p. 53-60, 2022. DOI: 10.14710/jvsar.v4i2.15376.

QUATRIN, Priscilla M.; VERDI, Carolina M.; SILVA, Francieli; LORA, Marília; PAGNO, Thaysa; TAVARES, Priscila B.; FERRAZ, Maurício S.; FARIA, Jean M.; SILVA, Cleide B.; SANTOS, Roberto C. V. Antimicrobial and antibiofilm activities of nanoemulsions containing *Eucalyptus globulus* oil against *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida* spp. **Microbial Pathogenesis**, v. 113, p. 84–89, 2017. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.09.062.

RAEMDONCK, Koen; DEMEESTER, Joseph; DE SMEDT, Stefaan. Advanced nanogel engineering for drug delivery. **Soft Matter**, v. 5, n. 4, p. 707-715, 2009. DOI: 10.1039/b811923f.

RAFIQ, Aasima; MANZOOR, Bushra; NAYEEM, Mariya; JABEEN, Abida; AMIN, Quraazah A. Extraction of essential oils. In: **Extraction Processes in the Food Industry**. Elsevier, 2024. p. 279-298. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819516-1.00005-3>

RAHI, Praveen, RODRIGUES, Carla e BRISSE, Sylvain. “Klebsiella”. **Bergey’s Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1-23, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01150.pub2>

RAJPUT, Rahul; NARKHEDE, Jitendra; NAIK, Jitendra. Nanogels as nanocarriers for drug delivery: A review. **ADMET and DMPK**, v. 8, n. 1, p. 1-15, 2019. DOI: 10.5599/admet.724.

RAMALHO, Maria Auxiliadora da Silva; SANTOS, Bernadete; RAMALHO, Daniel Fernandes; CUNHA, Saraghina Maria Donato da; ANJOS, Raline Mendonça dos; OLIVEIRA, Heloisa Mara Batista Fernandes de; SOUSA, Aleson Pereira de; OLIVEIRA FILHO, Abrahão Alves de. Atividade antiaderente dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus citriodora* contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. 1-15, 2020. DOI:10.33448/rsd-v9i7.4245.

REHMAN, Anis; IQBAL, Muhammad; KHAN, Barkat A.; ALSHEHRI, Sameer; ALAMRI, Ali H.; KHAN, Muhammad Khalid; ALZHRANI, Rami M.; BUKHARY, Deena M.; HUWAIMEL, Bader; SAFHI, Awaji Y.; HOSNY, Khaled M. Fabrication, In Vitro, and In Vivo Assessment of Eucalyptol-Loaded Nanoemulgel as a Novel Paradigm for Wound Healing. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 9, p. 1971, 2022. DOI: 10.3390/pharmaceutics14091971.

RESENDE, J. A.; FONTES, E. N. R.; ROSA, R. C.; GAVA, L. D.; FERNANDES, F. J. N.; IGNACCHITI, M. D. C. Potencial antimicrobiano e antibiofilme de *Eucalyptus globulus* e *Mentha piperita* L. e a associação com antimicrobianos comerciais. **Scientia Plena**, v. 18, n. 11, p. 114501, 2022. DOI:10.14808/sci.plena.2022.114501.

RIBEIRO, Wesley L. C.; CAMURÇA-VASCONCELOS, Ana L. F.; SANTOS, Jessica M. L. dos; MACEDO, Iara T. F.; RIBEIRO, Juliana de C.; OLIVEIRA, Erick F. de; PAULA, Haroldo C. B. de; BEVILAQUA, Claudia M. L. Uso da nanoemulsão de

Eucalyptus staigeriana no controle da hemoncosse em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 221-226, 2017. DOI: 10.1590/S0100-736X2017000300004.

ROMES, Nissha Bharrathi; WAHAB, Roswanira Abdul; HAMID, Mariani Abdul. The role of bioactive phytoconstituents-loaded nanoemulsions for skin improvement: a review. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 35, n. 1, p. 711-730, 2021. DOI: 10.1080/13102818.2021.1915869.

RYAZANOVA, T. K.; *et al.* Relevant Issues of Standardisation of Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations Containing Essential Oils. **Vedomosti Naučnogo centra èkspertizy sredstv medicinskogo primeneniâ**, v. 2023, p. 1-10, 2023. DOI:10.30895/1991-2919-2023-495.

SAENGSORN, Kiattiphumi; JIMTAISONG, Ampa. Determination of hydrophilic–lipophilic balance value and emulsion properties of sachai inchi oil. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7, n. 12, p. 1092-1096, 2017. DOI: 10.1016/j.apjtb.2017.10.011.

SALARIA, Deeksha; ROLTA, Rajan; PRAKASH, Ajay; FADARE, Olatomide A.; JACHAK, Sanjay; MEDHI, Bikash. In silico and In vitro Antibacterial Activity of Essential oil of *Eucalyptus globulus* Labill. **Research Square**, 2023. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3415356/v1>

SALVATORI, Emilly S.; ROSINA, Adriano; MORGAN, Letícia V.; FERRARINI, Samara; ALMEIDA, Manuelle O. P.; REZENDE, Renan S.; ZILLI, Gabriela A. L.; HACKBART, Helen C. S.; ALBENY-SIMÕES, Daniel; GASPARRETTO, Adriana; OLIVEIRA, J. Vladimir; MÜLLER, Liz G.; DAL MAGRO, Jacir. Anti-Inflammatory and Antimicrobial Effects of *Eucalyptus* spp. Essential Oils: A Potential Valuable Use for an Industry Byproduct. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2023, p. 1-13, 2023. DOI: 10.1155/2023/2582698.

SAMOILOVA, A.; *et al.* Genomic analysis of *Klebsiella pneumoniae* strains virulence and antibiotic resistance. **Russian Journal of Infection and Immunity**, v. 15, n. 4, p. 1-15, 2024. DOI:10.15789/2220-7619-GAO-15645.

SANDHU, Komalpreet Kaur; VASHISHAT, Nisha; KOCHER, Devinder Kaur. Formulation of eucalyptus oil-zinc sulphide hybrid nanoemulsion and evaluation of its larvicidal potential against *Aedes aegypti*. **African Entomology**, v. 31, e12791, 2023. DOI: 10.17159/2254-8854/2023/a12791.

SANTOS, Alda Ernestina dos. Chemical and biological importance of Eucalyptus volatile oils. **Scientia Naturalis**, v. 3, n. 1, p. 370-383, mar. 2021. DOI:10.29327/269504.3.1-30.

SANTOS, Jenifer; ALFARO-RODRÍGUEZ, Maria-Carmen; VEGA, Lili; MUÑOZ, José. Relationship between HLB Number and Predominant Destabilization Process in Microfluidized Nanoemulsions Formulated with Lemon Essential Oil. **Applied Sciences**, v. 13, n. 5208, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/app13085208>

SANTOS, Vinícius Rocha Lima. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Pogostemon cablin* contra *Klebsiella pneumoniae*. Trabalho de Conclusão de Curso

(Bacharelado em Odontologia) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, 2023.

SARTORATTO, Adilson *et al.* Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822004000300001>.

SHAKYA, Poonam; JOGI, Joycee; RAI, Ajay; BORDOLOI, Smita; GAJBHIYE, Shilpa; GARG, Akshay; SINGH, R. P. Delving into the Fascinating Realm of Biofilm Forming Bacteria: A Review. **Advances in Research**, v. 25, n. 6, p. 315-324, 2024. DOI: [10.9734/air/2024/v25i61205](https://doi.org/10.9734/air/2024/v25i61205).

SHAMANNA, Varun; SRINIVAS, Srikanth; COUTO, Natacha; NAGARAJ, Geetha; SAJANKILA, Shyama Prasad; KRISHNAPPA, Hatshitha Gangaiah; KUMAR, Kavitha Arakalagud; AANENSEN, David; RAVIKUMAR, Kadahalli Lingegowda; GHRU India Consortium. Geographical distribution, disease association and diversity of *Klebsiella pneumoniae* K/L and O antigens in India: roadmap for vaccine development. **Microbial Genomics**, v. 10, n. 7, p. 1-15, 2024. DOI: [10.1099/mgen.0.001271](https://doi.org/10.1099/mgen.0.001271).

SHARMA, A.; FARMAHA, Mohit; KAUR, Inderjeet. Preparation and characterization of O/W nanoemulsion with eucalyptus essential oil and study of in vitro antibacterial activity. **Nanomedicine Research Journal**, v. 5, n. 4, p. 234-245, 2020. DOI: [10.22034/NMRJ.2020.04.006](https://doi.org/10.22034/NMRJ.2020.04.006).

SHARMA, A.; KAUR, Inderjeet; SINGH, Narveer. Synthesis, Characterization, and In Vitro Drug Release and In Vitro Antibacterial Activity of O/W Nanoemulsions Loaded with Natural *Eucalyptus globulus* Essential Oil. **Journal of Materials Science and Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 4, p. 103–115, 2021. DOI: [10.1016/j.jmphr.2021.07.012](https://doi.org/10.1016/j.jmphr.2021.07.012).

SHARMA, Arun Dev; KAUR, Inderjeet; CHAUHAN, Amrita. Anti-aspergillosis and anti-mucormycosis potential of eucalyptus essential oil based O/W nanoemulsions containing azole based drugs from *Eucalyptus globulus*. **Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences**, v. 10, p. 313-329, 2024. DOI: [10.1007/s43994-023-00108-8](https://doi.org/10.1007/s43994-023-00108-8).

SHURAYFAN, Zahra Mohammed Mohammed; SHUBAYLI, Sarah Ibrahim Ali; MAHA, Sabah Mansour Ahmed; ALLAGHABI, Salihah Ahmed; MANAA, Aeshah Mohammed Easa; HZAZI, Fatimah Ahmed Ali; HAMDI, Ghadah Abdo Yahya. Biofilms: Mechanisms of Formation and Strategies for Control in Clinical Settings. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 67, Supl. M. R. Mahran, p. 793–816, 2024. DOI: [10.21608/ejchem.2024.313008.10212](https://doi.org/10.21608/ejchem.2024.313008.10212).

SILVA MARIZ, W.; ALVES, M. M. S.; TORRES, J. L. M.; MEDEIROS, M. A. A.; RODRIGUES, D. C.; OLIVEIRA FILHO, A. A. Avaliação da associação do óleo essencial de *Lavandula Hybrida* Grosso com antimicrobianos sintéticos frente a *Klebsiella pneumoniae*. **Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro**, v. 11, n. 1, 2023. DOI: [10.61164/rmnm.v11i1.1618](https://doi.org/10.61164/rmnm.v11i1.1618).

SILVA, S. L.; ARAÚJO, F. S. M.; SILVA, P. O. A.; SILVA, E. V. A.; BEZERRA, M. M. S. L.; DINIZ, A. F.; OLIVEIRA, D. M.; JESUS, H. O.; NASCIMENTO-JUNIOR, B. B.; MEDEIROS, L. A. D. M.; OLIVEIRA-FILHO, A. A. Evaluation of the antimicrobial effect of the *Origanum vulgare* L. essential oil on strains of *Klebsiella pneumoniae*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, e269317, 2023. DOI: 10.1590/1519-6984.269317.

SMEJKAL, G.; GROSS, V.; LAZAREV, A. Theoretical and Experimental Determinations of the Hydrophilic–Lipophilic Balance (HLB) of Representative Oils and Lecithins. *Colloids and Interfaces*, v. 8, n. 2, p. 21, 2024. DOI: 10.3390/colloids8020021.
SONG, Ruiteng; LIN, Yongqi; LI, Zhenzhen. Ultrasonic-assisted preparation of eucalyptus oil nanoemulsion: Process optimization, in vitro digestive stability, and anti-*Escherichia coli* activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 80, 2021. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2021.105904.

SOUZA, Elaine Roberta Leite de; CRUZ, José Henrique de Araújo; FERREIRA, José Lucas Soares; OLIVEIRA, Heloisa Mara Batista Fernandes de; OLIVEIRA FILHO, Abrahão Alves de. Potencial antimicrobiano e antiaderente do óleo essencial de *Lavandula híbrida* grosso contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. **Archives of Health Investigation**, v. 10, n. 6, p. 906-912, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21270/archi.v10i6.5008>.

SILVA, R. A. B.; ALMEIDA, D. P.; SOUZA, H. M. F.; SANTOS, P. J.; OLIVEIRA, J. G. M.; LIMA, F. E. M.; PEREIRA, N. M.; MEDEIROS, A. C. D. Evaluation of the antimicrobial effect of the *Origanum vulgare* L. essential oil on strains of *Klebsiella pneumoniae*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.269317>.

SILVA, Paula Porrelli Moreira da; OLIVEIRA, Jacqueline de; BIAZOTTO, Anaíle dos Mares; PARISI, Marise Martins; GLÓRIA, Eduardo Micoti da; SPOTO, Marta Helena Fillet. Essential oils from *Eucalyptus staigeriana* F. Muell. ex Bailey and *Eucalyptus urograndis* W. Hill ex Maiden associated to carboxymethylcellulose coating for the control of *Botrytis cinerea* Pers. Fr. and *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. in strawberries. **Industrial Crops and Products**, v. 156, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112884>.

SIDDI, Rana; PATEL, Mansi M.; SHAH, Chainesh; DALWADI, Mitali; UPADHYAY, Umesh. Nanoemulsion for Topical Drug Delivery System: An Overview. **Human Journals**, v. 22, n. 3, p. 462-475, out. 2021.

SINGH, Neetu; YADAV, Surender Singh; NARASIHMAN, Balasubramanian. Chemical Composition and Antioxidant Activities of Spices Essential Oils. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 17, n. 7, p. 3367-4, 2024. DOI: 10.52711/0974-360X.2024.00526.

SMEJKAL, Gary; GROSS, Vera; LAZAREV, Alexander. Theoretical and Experimental Determinations of the Hydrophilic–Lipophilic Balance (HLB) of Representative Oils and Lecithins. **Colloids and Interfaces**, v. 8, n. 2, p. 21, 2024. DOI: 10.3390/colloids8020021.

SOUZA, Elaine Roberta Leite de; CRUZ, José Henrique de Araújo; FERREIRA, José Lucas Soares; OLIVEIRA, Heloisa Mara Batista Fernandes de; OLIVEIRA FILHO, Abrahão Alves de. Potencial antimicrobiano e antiaderente do óleo essencial de *Lavandula híbrida* grosso contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. **Archives of Health Investigation**, v. 10, n. 6, p. 906-912, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.21270/archi.v10i6.5008>.

SUMMERTON, Emily; ZIMBITAS, Georgina; BRITTON, Melanie; BAKALIS, Serafim. Low temperature stability of surfactant systems. **Trends in Food Science & Technology**, v. 60, p. 23-30, 2017. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.10.020.

TAHA, Ahmed; AHMED, Eman; ISMAIEL, Amr; ASHOKKUMAR, Muthupandian; XU, Xiaoyun; PAN, Siyi; HU, Hao. Ultrasonic emulsification: An overview on the preparation of different emulsifiers-stabilized emulsions. **Trends in Food Science & Technology**, v. 105, p. 363-377, 2020. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.09.024.

TANUKU, Srivalli; VELISILA, Dedeepya; THATRAJU, Dharani; VADAGA, Anil Kumar. Nanoemulsion Formulation Strategies for Enhanced Drug Delivery: Review Article. **Journal of Pharma Insights and Research**, v. 2, n. 4, p. 125-138, 2024. DOI: 10.69613/3f8m9151.

TAYEB, Hossam H.; MOQADDAM, Shahd A.; HASABALLAH, Nojod H.; FELIMBAN, Raed I. Development of nanoemulsions for the delivery of hydrophobic and hydrophilic compounds against carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. **RSC Advances**, v. 12, n. 40, p. 25678–25689, 2022. DOI: 10.1039/D2RA03925G.

THAKUR, Nishi; GARG, Garima; SHARMA, P. K.; KUMAR, Nitin. Nanoemulsions: A Review on Various Pharmaceutical Application. **Global Journal of Pharmacology**, v. 6, n. 3, p. 89-94, 2012. DOI: 10.5829/idosi.gjp.2012.6.3.65135.

VALDEZ-LARA, Alejandra Gabriela; JARAMILLO-GRANADA, Ángela M.; ORTEGA-ZAMBRANO, Daniel; GARCÍA-MARQUEZ, Eristeo; GARCÍA-FAJARDO, Jorge Alberto; MERCADO-URIBE, H.; RUIZ-SUÁREZ, J. C. Disruption of biological membranes by hydrophobic molecules: a way to inhibit bacterial growth. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1478519>

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ P. D. A generalization of retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **J Chromat. A**. 1963;11:463-471. DOI:10.1016/S0021- 9673(01)80947-X

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. Óleo essencial de eucalipto. **Documentos Florestais nº 17**. Piracicaba: ESALQ, 2003.

WANG, Bangjuan; WANG, Bangjuan; *et al.* Transfer dynamics of antimicrobial resistance among gram-negative bacteria. **Science of The Total Environment**, v. 176347, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176347>.

WANG, Dexiao; SHI, Zhengmei; ZHANG, Chenggui; *et al.* E. globulus leaf EO exhibits anti-inflammatory effects by regulating GSDMD-mediated pyroptosis, thereby

alleviating neurological impairment and neuroinflammation in experimental stroke mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 310, p. 117367, 2023. DOI: 10.1016/j.jep.2023.117367.

YAP, Xing Fui; SAW, Seow Hoon; LIM, Vuanghao; TAN, Chin Xuan. Plant Essential Oil Nanoemulgel as a Cosmeceutical Ingredient: A Review. **Cosmetics**, v. 11, n. 4, p. 116, 2024. DOI: 10.3390/cosmetics11040116.

YAHYAA, Esam Bashir; ABDULSAMAD, Muhanad Abdullah. In-vitro antibacterial activity of carbopol-essential oils hydrogels. **Journal of Applied Science & Process Engineering**, v. 7, n. 2, p. 564–571, 2020. DOI:10.33736/jaspe.2547.2020.

ZANIN, S. M. W.; MIGUEL, M. D.; CHIMELLI, M. C.; OLIVEIRA, A. B. Determinação do Equilíbrio Hidrófilo-Lipófilo (EHL) de Óleos de Origem Vegetal. **Visão Acadêmica**, v. 3, n. 1, p. 13-18, 2002. DOI: 10.5380/acd.v3i1.494.

ANEXO – Artigo publicado em periódico científico

de Paula, A. F. R., da Silva, R. L., da Silva, V. A., de Freitas, A. R. R., Oliveira, P. E. de A., & de Oliveira Filho, A. A. (2025). Aspectos botânicos, fitoquímicos e farmacológicos de *Eucalyptus staigeriana*: uma breve revisão. **Revista Brasileira De Educação E Saúde**, 15(2), 302–307. <https://doi.org/10.18378/rebes.v15i2.11341>

Revista Brasileira de Educação e Saúde-REBES
Grupo Verde de Agroecologia e Abelhas- GVAA
ISSN: 2358-2391
DOI 10.18378/rebes.v15i2.11335



Artigo Científico

Aspectos botânicos, fitoquímicos e farmacológicos de *Eucalyptus staigeriana*: uma breve revisão
Botanical, Phytochemical, and Pharmacological Aspects of Eucalyptus staigeriana: A Brief Review

Andrea Fernanda Ramos de Paula Paula¹, Ravenna Leite da Silva², Viviane Araújo da Silva³, Alane Renali Ramos de Freitas⁴, Pierni Emanuel de Abreu Oliveira⁵, Abrahão Alves de Oliveira Filho⁶

¹Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil. E-mail: andrea.fernanda@academico.ufpb.br

²Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil. E-mail: ravennaleite3@gmail.com

³Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil. E-mail: viviane.biologia@hotmail.com

⁴Faculdade Internacional da Paraíba, João Pessoa Paraíba, Brasil. E-mail: alanerenali@hotmail.com

⁵Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brasil. E-mail: pierreeao@gmail.com

⁶Universidade Federal de Campina Grande, Patos-Paraíba, Brasil. E-mail: abrahao.farm@gmail.com

Resumo - O aumento de bactérias multirresistentes, especialmente do grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.), representa uma ameaça crescente à saúde pública global, devido à resistência aos antibióticos e à formação de biofilmes. Diante da escassez de novos antibióticos, alternativas com o uso de produtos naturais como óleos essenciais têm despertado interesse. O óleo essencial de *Eucalyptus staigeriana*, pertencente à família *Myrtaceae*, é amplamente utilizado nas indústrias cosmética e alimentícia e se destaca farmacologicamente pela presença de monoterpenos oxigenados, que lhe conferem propriedades antimicrobianas, especialmente contra bactérias gram-positivas, embora sua eficácia contra gram-negativas seja limitada. Esta revisão narrativa analisa os aspectos botânicos e a atividade farmacológica do óleo essencial dessa espécie, com base em artigos das plataformas PubMed, BVS e Periódicos Capes publicados nos últimos 10 anos, em português e inglês. Os principais compostos desse óleo essencial incluem geraniol, nerol, limoneno e 1,8-cineol, responsáveis por suas propriedades antifúngicas, antibacterianas, anti-inflamatórias e antioxidantes. O óleo demonstrou eficácia contra patógenos fúngicos, como *Colletotrichum gloeosporioides*, *Greenieria uvicola* e *Botrytis cinerea*, além de ação larvicida contra *Aedes aegypti* e controle de nematóides em ovinos. No âmbito antibacteriano, apresentou atividade contra bactérias gram-positivas resistentes, como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Além disso, o óleo reduz mediadores inflamatórios, auxiliando no tratamento de doenças inflamatórias e oferecendo proteção contra danos oxidativos. O estudo reforça seu potencial para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos naturais inovadores.

Palavras-chave: Monoterpenos; Fitoterapia; Myrtaceae.

Abstract - The increase in multidrug-resistant bacteria, especially of the ESKAPE group (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacter* spp.), represents a growing threat to global public health, due to antibiotic resistance and the formation of biofilms. Faced with the scarcity of new antibiotics, alternatives using natural products such as essential oils have aroused interest. The essential oil of *Eucalyptus staigeriana*, belonging to the *Myrtaceae* family, is widely used in the cosmetic and food industries and stands out pharmacologically for the presence of oxygenated monoterpenes, which give it antimicrobial properties, especially against gram-positive bacteria. However, its effectiveness against gram-negative bacteria is limited. This narrative review analyzes the botanical aspects and pharmacological activity of the essential oil of this species, based on articles from the PubMed, VHL, and Capes Journals platforms published in the last 10 years, in Portuguese and English. The main compounds in this essential oil include geraniol, nerol, limonene, and 1,8-cineole, which are responsible for its antifungal, antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant properties. The oil has demonstrated efficacy against fungal pathogens, such as *Colletotrichum gloeosporioides*, *Greenieria uvicola*, and *Botrytis cinerea*, as well as larvicidal action against *Aedes aegypti* and control of nematodes in sheep. In the antibacterial field, it showed activity against resistant gram-positive bacteria, such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. In addition, the oil reduces inflammatory mediators, aiding in the treatment of inflammatory diseases and offering protection against oxidative damage. The study reinforces its potential for the development of innovative natural pharmaceuticals.

Key words: Monoterpenes; Phytotherapy; Myrtaceae.

