



## Atividade antimicrobiana do óleo de *Eucalyptus globulus*, xilitol e papaína: estudo piloto

Antimicrobial activity of *eucalyptus globulus* oil, xylitol and papain: a pilot study

Actividad antimicrobiana del aceite de *eucalyptus globulus*, xilitol y papaína: estudio piloto

Valéria de Siqueira Mota<sup>1</sup>, Ruth Natalia Teresa Turrini<sup>2</sup>, Vanessa de Brito Poveda<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Enfermeira, Comissão de Controle de Infecção Hospitalar, Santa Casa de Misericórdia de Lorena, Lorena, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Professora Livre-Docente, Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>3</sup> Professora Doutora, Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

### ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the *in vitro* antimicrobial activity of the *Eucalyptus globulus* essential oil, and of the xylitol and papain substances against the following microorganisms: *Pseudomonas aeruginosa*; *Samonella sp.*; *Staphylococcus aureus*; *Proteus vulgaris*; *Escherichia coli* and *Candida albicans*. **Method:** The *in vitro* antimicrobial evaluation was used by means of the agar diffusion test and evaluation of the inhibition zone diameter of the tested substances. Chlorhexidine 0.5% was used as control. **Results:** The *Eucalyptus globulus* oil showed higher inhibition than chlorhexidine when applied to *Staphylococcus aureus*, and equal inhibition when applied to the following microorganisms: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* and *Candida albicans*. Papain 10% showed lower antimicrobial effect than chlorhexidine in relation to *Candida albicans*. Xylitol showed no inhibition of the tested microorganisms. **Conclusion:** The *Eucalyptus globulus* oil has antimicrobial activity against different microorganisms and appears to be a viable alternative as germicidal agent hence, further investigation is recommended.

### DESCRIPTORS

Eucalyptus Globulus; Papain; Xylitol; Anti-Infective Agents; Infection Control; Nursing.

#### Autor Correspondente:

Vanessa de Brito Poveda  
Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo  
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 419 - Cerqueira César  
CEP 05403-000 – São Paulo, SP, Brasil  
vbpoveda@usp.br

Recebido: 16/09/2014  
Aprovado: 04/12/2014

## INTRODUÇÃO

Os germicidas adotados em ambientes de cuidados à saúde, ou seja, antissépticos ou desinfetantes, são utilizados de forma indiscriminada, frequentemente em concentrações muito superiores àquela considerada Concentração Inibitória Mínima (CIM), o que tem potencializado o surgimento de resistência microbiana também a esses agentes<sup>(1-2)</sup>.

As substâncias germicidas são empregadas em diversas situações por agirem em diferentes locais da célula microbiana, possuindo ação bactericida ou bacteriostática, além de importante efeito residual<sup>(2)</sup>. Assim, os agentes antissépticos, como por exemplo, a clorexidina, são aplicados, preferencialmente, na antisepsia de pele, mucosa e cateteres, já os desinfetantes, como o hipoclorito, podem ser usados na limpeza de bancadas e de artigos não críticos ou semicríticos<sup>(2-3)</sup>.

O uso indiscriminado dos germicidas impacta na forma de sobrevivência dos micro-organismos, sobretudo das bactérias, que desenvolveram múltiplos mecanismos para superarem os agentes antimicrobianos disponíveis, desde a produção de enzimas inativadoras de drogas, até mutações genéticas e sua transmissão para novas gerações bacterianas<sup>(4)</sup>.

Reconhecendo-se o problema da resistência bacteriana surge a necessidade de analisar a capacidade de novas substâncias em relação a suas propriedades antimicrobianas, e, ao considerarmos o Brasil um país rico em diversidade de flora e capacidade para o desenvolvimento da agricultura, torna-se interessante e necessário o estudo de produtos derivados de plantas, como princípio ativo de possíveis agentes germicidas.

Entre estas substâncias, destaca-se o xilitol, um composto poliálcool de cinco átomos de carbono, obtido pela indústria química a partir da cana-de-açúcar. O xilitol tem sido empregado em grande escala pelas indústrias odontológicas, alimentícias e médico-farmacêuticas, ademais, vem demonstrado ação contra biofilmes em feridas<sup>(5)</sup>, além de ter sido testado, em modelo animal, como medida complementar no tratamento de osteomielite<sup>(6)</sup>. Sublinha-se também sua atividade contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*<sup>(5)</sup>.

Outro derivado vegetal, a papaína, é uma enzima proteolítica extraída dos frutos do mamão (*Carica papaya*), conhecida por sua ação proteolítica e anti-inflamatória, adotada como agente debridante tópico em ferimentos de pele. Sua utilização é indicada para feridas limpas e infectadas em diversas fases do processo de cicatrização, sendo aplicada em diferentes concentrações e/ou apresentações, de acordo com o tipo de tecido presente no leito da ferida. Atribui-se também à papaína ações bactericidas e bacteriostáticas, porém, estas evidências são provenientes de estudos com delineamentos de pesquisa, que não são capazes de produzir evidências fortes<sup>(7)</sup>.

Ressalta-se também, a extração de óleos derivados de plantas, método relativamente barato e disponível em todo o mundo, constituindo-se em alternativa interessante para o tratamento de infecções adquiridas em serviços de saúde. Dentre os diversos tipos de óleos estudados, aquele extraído das folhas de diversas espécies de Eucalipto, árvore pertencente à família *Myrtaceae*, nativa da Austrália, tem sido destinado especialmente à fabricação de produ-

tos farmacêuticos inalantes, estimulantes da secreção nasal, produtos de higiene bucal, ou ainda com a função de dar sabor e aroma aos medicamentos, contudo, evidências recentes apontam possíveis efeitos associados à cicatrização, ação anti-inflamatória e antimicrobiana<sup>(8)</sup>.

Todos os produtos citados anteriormente são largamente cultivados no Brasil, dessa forma, avaliar o potencial destas substâncias pode resultar em hipóteses futuras de investigações, como o desenvolvimento de produtos antissépticos ou desinfetantes, que atenderiam à preocupação com o emergente risco de redução de sensibilidade dos micro-organismos aos agentes germicidas disponíveis<sup>(9)</sup>, ou ainda, estimular descobertas relativas à prevenção e tratamento de biofilmes, especialmente em feridas crônicas, que retardam ou mesmo impedem a cicatrização das mesmas, gerando elevados custos para o tratamento e morbimortalidade associada<sup>(10)</sup>.

Portanto, o presente estudo procurou avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, xilitol e papaína, frente aos micro-organismos: *Pseudomonas aureginosa*; *Samonella sp.*; *Staphylococcus aureus*; *Proteus vulgaris*; *Escherichia coli* e *Candida albicans*.

## MÉTODO

Trata-se de um estudo piloto, do tipo laboratorial qualitativo, desenvolvido no Laboratório de Microbiologia de uma faculdade do interior do estado de São Paulo. O Projeto de pesquisa, apesar de não incluir seres humanos em suas análises, foi aprovado por Comitê de Ética em Pesquisa, sob o número de parecer 107/2011.

## ORGANIZAÇÃO DO PROCEDIMENTO

Os micro-organismos empregados na investigação foram selecionados por representarem agentes frequentes na ocorrência de infecções relacionadas à assistência à saúde. Portanto, foram utilizadas as bactérias gram-negativas: *Pseudomonas aureginosa* (BA 01 nov./2012), *Samonella sp.* (BA 02 fev./2012), *Proteus vulgaris* (BA 03 fev./2012) e *Escherichia coli* (BA 01 ago./2011); a bactéria gram-positiva: *Staphylococcus aureus* (BA 01 fev./2012) e o fungo *Candida albicans*, adquiridas da empresa Control Lab.

Os produtos utilizados nos ensaios foram: papaína em concentrações de 10 e 20%; xilitol em concentrações de 10 e 20% e o óleo essencial de *Eucalyptus globulus*. Considerou-se como referência para comparação o antisséptico empregado nas instituições de saúde, clorexidina alcoólica 0,5%, da marca RIOHEX®0,5%.

O óleo de eucalipto foi extraído conforme segue: a planta foi coletada em uma cidade na região do Vale do Paraíba, interior do estado de São Paulo, no mês de fevereiro de 2012. Para a obtenção do óleo, as folhas foram lavadas com água potável e sofreram secagem ao ar livre, sendo posteriormente colocadas no aparelho Clevenger para obtenção do óleo por meio da técnica de arraste a vapor e pelo método de hidrodestilação. O óleo essencial de *Eucalyptus globulus* extraído permaneceu em frasco estéril rotulado.

A papaína em pó foi adquirida em farmácia de manipulação e o xilitol em pó foi obtido junto ao Laboratório da

Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo. Os dois produtos foram diluídos com água estéril destilada em concentrações de 10 e 20% em frascos estéreis identificados, com volume final de 10 mililitros (ml).

### PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

Foi empregada a avaliação antimicrobiana *in vitro*, pelo teste da difusão em ágar *Brain Heart Infusion* (BHI), por se tratar de um método de prova qualitativa adequado para estudar a sensibilidade das bactérias de crescimento rápido. O diâmetro do halo de inibição expressa a difusão do agente, determinando o poder antimicrobiano do material testado<sup>(11)</sup>.

Os micro-organismos foram semeados pela alça de platina em tubos de ensaio rotulados contendo cinco ml de caldo nutriente estéril e incubados a 36 °C por 24 horas. Após esse período, cada micro-organismo foi semeado em duas placas de Petri, identificadas e esterilizadas, contendo ágar nutriente. Os micro-organismos foram distribuídos, com *swabs* estéreis, por técnica de rolamento, em todo o meio de cultura.

Os discos estéreis de papel filtro de um centímetro (cm) de diâmetro foram embebidos nas soluções com auxílio de pinças estéreis, até a completa absorção dos produtos utili-

zados no ensaio e distribuídos nos meios de cultura, devidamente identificados e numerados.

Todas as placas foram colocadas em estufa bacteriológica a 36 °C por 24h. Após este período, a leitura do resultado foi realizada a olho nu e mediu-se o halo de inibição com régua<sup>(12)</sup>.

### RESULTADOS

Os halos de inibição provocados pelos produtos testados nos diferentes micro-organismos estão na Tabela 1.

A clorexidina 0,5% foi usada como referência (controle) para os outros produtos, por ser um agente germicida usado em grande escala nos serviços de assistência à saúde.

Observou-se que, dentre as substâncias testadas, apenas o óleo de Eucalipto apresentou inibição superior à da clorexidina em relação ao micro-organismo *S. aureus* e a mesma inibição em relação aos micro-organismos gram-negativos *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Proteus vulgaris* (Tabela 1).

A papaína a 10% apresentou resultado inferior ao da clorexidina, com inibição apenas de 1,6 cm em relação à *Candida albicans* (Tabela 1).

Os produtos xilitol a 10 e 20% e papaína a 20% não apresentaram inibição em relação aos micro-organismos testados (Tabela 1).

**Tabela 1** – Apresentação do halo de inibição em centímetros (cm), segundo produto e micro-organismo testados - São Paulo, 2012.

Classificação	Micro-organismos	HALO DE INIBIÇÃO (cm)					
		Controle		Produtos testados			
		Clorexidina 0,5%	Eucalyptus globulus (óleo)	Papaína 10%	Papaína 20%	Xilitol 10%	Xilitol 20%
Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	9	0	0	0	0
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	3	3	0	0	0	0
Gram -	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	0	0	0	0	0
Gram -	<i>Salmonella sp.</i>	4	0	0	0	0	0
Gram -	<i>Proteus vulgaris</i>	5	5	0	0	0	0
Fungo	<i>Candida albicans</i>	5	5	1,6	0	0	0

### DISCUSSÃO

A descoberta de novas propriedades para produtos naturais já conhecidos e utilizados para outras finalidades deve ser estimulada, principalmente ao nos depararmos com a emergente resistência microbiana aos agentes antimicrobianos empregados atualmente.

Dentre as substâncias testadas no presente estudo, o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* destacou-se em relação a sua atividade antimicrobiana, sendo semelhante à da clorexidina em alguns micro-organismos gram-negativos e fungo testados e superior em relação ao micro-organismo gram-positivo incluído, tradicionalmente associado a infecções relacionadas à assistência em saúde.

O resultado identificado vem ao encontro da literatura científica produzida recentemente, que testou o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* em diferentes concentrações, contra cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, sendo que

a concentração a 100% do óleo essencial obteve o maior halo de inibição, quando comparada às demais concentrações testadas<sup>(11)</sup>. Destaca-se, também, a ação do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* contra cepas de *Staphylococcus aureus* metilicina resistente (MRSA)<sup>(13-14)</sup>.

Entretanto, a atividade antimicrobiana do óleo de *Eucalyptus globulus* parece ser inferior em relação a algumas bactérias gram-negativas, como a *Klebsiela*, *Pseudomonas* e *Acinetobacter*<sup>(15)</sup>. Vale ressaltar, contudo que, o presente estudo observou inibição do crescimento de parte dos micro-organismos gram-negativos testados, ou seja, a ação antimicrobiana do óleo de *Eucalyptus globulus* foi similar à da clorexidina, quando aplicado às bactérias *Proteus* e *Escherichia coli*, embora não tenha inibido o crescimento das bactérias *Pseudomonas* e *Salmonella*.

Observou-se também na presente investigação que, apesar da papaína a 10% ter sido capaz de gerar um halo de inibição de 1,6 cm em relação à *Candida albicans*, este re-

sultado foi inferior ao halo de inibição de cinco centímetros obtido pela clorexidina.

Da mesma forma, outra pesquisa testou diferentes concentrações de papaína na formulação gel, em relação a diversos micro-organismos *in vitro* e seus resultados demonstraram inibição bacteriana apenas em relação ao *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* na concentração a 10%<sup>(16)</sup>.

Cabe destacar a ação da papaína como debridante enzimático, e neste sentido, estudo em ratos com feridas intencionalmente contaminadas com *Escherichia coli* observou que a papaína superou os outros produtos testados (colagenase e solução fisiológica), permitindo uma rápida redução da contagem bacteriana, o que contribuiu para a cicatrização dos ferimentos<sup>(17)</sup>.

Percebe-se, contudo, que a ação antimicrobiana da papaína é pouco estudada e, que, apesar de incipiente, as evidências científicas parecem demonstrar o potencial de ação do produto contra determinados tipos de micro-organismos<sup>(16-17)</sup>. Portanto, existe a necessidade de testá-la em outras concentrações, verificando sua atuação antimicrobiana *in vitro* e *in vivo*, principalmente, dado que sua utilização no tratamento de lesões de pele é abrangente, constituindo uma realidade nos serviços de saúde brasileiros.

Quanto ao xilitol, este produto vem sendo largamente utilizado pela indústria alimentícia e estudado pelos dentistas na prevenção de placas e cáries dentárias<sup>(18)</sup>. Porém, ressalta-se que, na presente pesquisa, não houve inibição de crescimento microbiano quando se utilizou as concentrações de xilitol a 10 e 20%.

O xilitol tem sido indicado na literatura científica como alternativa na prevenção e tratamento do biofilme, tanto dentário, quanto em feridas, apresentando um efeito moderado na inibição do seu crescimento<sup>(5)</sup>, que pode ser potencializado na combinação do xilitol com outra substância, denominada lactoferrina. Juntas, seriam capazes de causar desestabilização do biofilme, com efeitos importantes sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa*<sup>(19)</sup>.

Além disso, o xilitol seria capaz de, em presença de outra fonte de carbono, agir sobre cepas de *Streptococcus pneumoniae* provenientes de crianças com otite média, interferindo na formação do biofilme<sup>(20)</sup>. Este fato estaria associado à competência do xilitol em alterar a estrutura capsular do pneumococo<sup>(21)</sup>.

O biofilme é um problema persistente e de difícil manejo, responsável por diversos problemas clínicos, entre eles, a recorrência e dificuldade de cicatrização de feridas crônicas

infectadas, perda de cateteres e próteses. Somado a estes aspectos, salienta-se, também, sua progressiva e rápida resistência aos agentes antimicrobianos atualmente empregados, como por exemplo, a clorexidina, o que demonstra não ser possível o sucesso de uma única terapia, e sim uma abordagem multifatorial para o seu controle<sup>(22-23)</sup>.

Assim, diante das evidências científicas, parece que, apesar de promissor, o xilitol precisa ser combinado com outras substâncias para ter sua ação potencializada, podendo ser uma alternativa para a prevenção e o tratamento de biofilmes. Dessa maneira, faz-se necessário investir em pesquisas que permitam encontrar soluções para a problemática do biofilme ou que possam combatê-lo de forma mais eficiente.

## CONCLUSÃO

Concluiu-se que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* possui atividade antimicrobiana superior à da clorexidina em relação à bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* e igual ação antimicrobiana para as bactérias gram-negativas *Escherichia coli* e *Proteus vulgaris*, e ao fungo *Candida albicans*.

A papaína apresentou efeito antimicrobiano em relação à *Candida albicans* apenas na concentração a 10%, e o xilitol não apresentou efeito antimicrobiano nas concentrações 10 e 20% testadas.

Dessa forma, pode-se inferir que o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* possui atividade antimicrobiana contra cepas de diferentes micro-organismos e pode ser uma alternativa viável como agente germicida. Assim, recomendam-se novas investigações que ampliem os testes para outros tipos de micro-organismos, e, explorem também sua compatibilidade para o uso em pele humana.

Cabe ressaltar que, diante da observação de uma discreta, mas presente ação antimicrobiana da papaína, faz-se necessária a condução de outras pesquisas relacionadas à sua ação antimicrobiana, principalmente no tratamento de feridas crônicas, com delineamentos que permitam demonstrar as dosagens ou apresentações ideais da substância para a obtenção de melhores resultados.

Apesar dos efeitos promissores do xilitol assinalados na literatura científica, sugere-se a necessidade de mais investigações, especialmente com a sua combinação com outras substâncias.

Neste sentido, existem ainda muitas lacunas a serem preenchidas na literatura científica quanto à utilização destas substâncias e suas possíveis propriedades farmacológicas e germicidas.

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* e das substâncias xilitol e papaína, frente aos micro-organismos: *Pseudomonas aeruginosa*; *Salmonella sp.*; *Staphylococcus aureus*; *Proteus vulgaris*; *Escherichia coli* e *Candida albicans*. **Método:** Utilizou-se a avaliação antimicrobiana *in vitro*, por meio do teste da difusão em ágar e avaliação do diâmetro do halo de inibição das substâncias testadas. A clorexidina 0,5% foi utilizada como controle. **Resultados:** Observou-se que o óleo de *Eucalyptus globulus* apresentou inibição superior à da clorexidina quando aplicado ao *Staphylococcus aureus*, e inibição idêntica quando aplicado aos micro-organismos *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* e *Candida albicans*. A papaína 10% apresentou efeito antimicrobiano inferior ao da clorexidina em relação à *Candida albicans*. O xilitol não apresentou inibição dos micro-organismos testados. **Conclusão:** O óleo de *Eucalyptus globulus* possui atividade antimicrobiana contra diferentes micro-organismos e parece ser uma alternativa viável como agente germicida, portanto, recomendam-se novas investigações.

## DESCRIPTORIOS

*Eucalyptus globulus*; Papaína; Xilitol; Anti-Infeciosos; Controle de Infecções; Enfermagem.



## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y las sustancias xilitol y papaína, ante los microorganismos: *Pseudomonas aeruginosa*; *Samonella sp.*; *Staphylococcus aureus*; *Proteus vulgaris*; *Escherichia coli* y *Candida albicans*. **Método:** Se utilizó la evaluación antimicrobiana *in vitro*, por medio de la prueba de la difusión en agar y evaluación del diámetro del halo de inhibición de las sustancias probadas. La clorhexidina al 0,5% fue utilizada como control. **Resultados:** Se advirtió que el aceite de *Eucalyptus globulus* presentó inhibición superior a la de la clorhexidina cuando aplicado al *Staphylococcus aureus*, e inhibición idéntica cuando aplicado a los microorganismos *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* y *Candida albicans*. La papaína al 10% presentó efecto antimicrobiano inferior al de la clorhexidina con relación a la *Candida albicans*. El xilitol no presentó inhibición de los microorganismos probados. **Conclusión:** El aceite de *Eucalyptus globulus* tiene actividad antimicrobiana contra diferentes microorganismos y parece ser una alternativa viable como agente germicida, por lo que se recomiendan nuevas investigaciones.

## DESCRITORES

*Eucalyptus globulus*; Papaína; Xilitol; Antiinfecciosos; Control de Infecciones; Enfermería.

## REFERÊNCIAS

1. Padovani CM, Graziano KU, Goveia VR. Microbiological evaluation of different antiseptic povidone-iodine and chlorhexidine formulations after intentional contamination of containers. *Rev Latino Am Enfermagem*. 2008;16(6):1038-41.
2. Reis LM, Rabello BR, Ross C, Santos LMR. Avaliação da atividade antimicrobiana de antissépticos e desinfetantes utilizados em um serviço público de saúde. *Rev Bras Enferm*. 2011;64(5):870-5.
3. Ferreira MVF, Andrade D, Ferreira AM. Infection control related to central venous catheter impregnated with antiseptics: an integrative review. *Rev Esc Enferm USP* [Internet]. 2011 [cited 2014 Sep 11];45(4):1002-6. Available from: [http://www.scielo.br/pdf/reeusp/v45n4/en\\_v45n4a30.pdf](http://www.scielo.br/pdf/reeusp/v45n4/en_v45n4a30.pdf)
4. Nikaido H. Multidrug resistance in bacteria. *Annu Rev Biochem*. 2009;78:119-46.
5. Ammons MC, Ward LS, James GA. Anti-biofilm efficacy of a lactoferrin/xylitol wound hydrogel used in combination with silver wound dressings. *Int Wound J*. 2011;8(3):268-73.
6. Beenken KE, Bradney L, Bellamy W, Skinner RA, McLaren SG, Gruenwald MJ, et al. Use of xylitol to enhance the therapeutic efficacy of polymethylmethacrylate-based antibiotic therapy in treatment of chronic osteomyelitis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(11):5839-44.
7. Leite AP, Oliveira BGRB, Soares MF, Barrocas DLR. Uso e efetividade da papaína no processo de cicatrização de feridas: uma revisão sistemática. *Rev Gaúcha Enferm*. 2012;33(3):198-207.
8. Warnke PH, Becker ST, Podschun R, Sivananthan S, Springer IN, Russo PA, et al. The battle against multi-resistant strains: renaissance of antimicrobial essential oils as a promising force to fight hospital-acquired infections. *J Craniomaxillofac Surg*. 2009;37(7):392-7.
9. Harbarth S, Tuan SS, Horner C, Wilcox MH. Is reduced susceptibility to disinfectants and antiseptics a risk in healthcare settings? A point/counterpoint review. *J Hosp Infect*. 2014;87(4):194-202.
10. Zhao G, Usui ML, Lippman SI, James GA, Stewart PS, Fleckman P, et al. Biofilms and inflammation in chronic wounds. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2013;2(7):389-99.
11. Brasil. Ministério da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Detecção e identificação de bactérias de importância médica: módulo V. Brasília: ANVISA; 2004.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; informational supplement seventeenth edition. Document M100-S17. NCCLS. 2007;27(1):1-173.
13. Bachir Raho G, Benali M. Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012;2(9):739-42.
14. Tohidpour A, Sattari M, Omidbaigi R, Yadegar A, Nazemi J. Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*. 2010;17(2):142-5.
15. Mulyaningsih S, Sporer F, Reichling J, Wink M. Antibacterial activity of essential oils from *Eucalyptus* and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. *Pharm Biol*. 2011;49(9):893-9.
16. Ferreira AM, Watanabe E, Nascimento AP, Andrade D, Ito IY. Atividade antibacteriana in vitro de géis com diferentes concentrações de papaína. *Rev Eletr Enferm* [Internet]. 2008 [citado 2014 jul. 19];10(4):1035-40. Disponível em: [http://www.fen.ufg.br/fen\\_revista/v10/n4/pdf/v10n4a15.pdf](http://www.fen.ufg.br/fen_revista/v10/n4/pdf/v10n4a15.pdf)
17. Payne WG, Salas RE, Ko F, Naidu DK, Donate G, Wright TE, et al. Enzymatic debriding agents are safe in wounds with high bacterial bioburdens and stimulate healing. *Eplasty*. 2008;8:e17.
18. Zhan L, Featherstone JD, Lo J, Krupansky C, Hoang N, DenBesten P, et al. Clinical efficacy and effects of xylitol wipes on bacterial virulence. *Adv Dent Res*. 2012;24(2):117-22.
19. Ammons MC, Ward LS, Dowd S, James GA. Combined treatment of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm with lactoferrin and xylitol inhibits the ability of bacteria to respond to damage resulting from lactoferrin iron chelation. *Int J Antimicrob Agents*. 2011;37(4):316-23.
20. Kurola P, Tapiainen T, Sevander J, Kaijalainen T, Leinonen M, Uhari M, et al. Effect of xylitol and other carbon sources on *Streptococcus pneumoniae* biofilm formation and gene expression in vitro. *APMIS*. 2011;119(2):135-42.
21. Kurola P, Tapiainen T, Kaijalainen T, Uhari M, Saukkoriipi A. Xylitol and capsular gene expression in *Streptococcus pneumoniae*. *J Med Microbiol*. 2009;58(Pt11):1470-3.
22. Percival SL, Finnegan S, Donelli G, Vuotto C, Rimmer S, Lipsky BA. Antiseptics for treating infected wounds: efficacy on biofilms and effect of pH. *Crit Rev Microbiol*. 2014 Aug 27:1-17. [Epub ahead of print].
23. Stojcic S, Shen Y, Haapasalo M. Effect of the source of biofilm bacteria, level of biofilm maturation, and type of disinfecting agent on the susceptibility of biofilm bacteria to antibacterial agents. *J Endod*. 2013;39(4):473-7.