



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA – CEUB
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Kyara Moreira Brito

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS FRENTE
A *ESCHERICHIA COLI*

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica apresentado à Assessoria de Pós-Graduação e Pesquisa.

Orientação: Lorena Cunha Mota

BRASÍLIA

2023

RESUMO

O presente artigo buscou avaliar os efeitos antibacterianos da tintura de sucupira e tintura de orégano frente à cepas de Escherichia Coli. A análise foi realizada utilizando o método de difusão em ágar para confirmar a eficácia antibacteriana das tinturas. Foram embebidos 3 discos na porcentagem de 100% tintura de orégano, 3 discos na porcentagem de 100% tintura de sucupira, 2 discos na porcentagem de 90% tintura de orégano e 10% tintura de sucupira, 2 discos na porcentagem de 90% tintura de sucupira e tintura de 10% orégano, 2 discos na porcentagem de 70% tintura de orégano e 30% tintura de sucupira, 2 discos na porcentagem de 70% tintura de sucupira e 30% tintura de orégano, e 4 discos na porcentagem de 50% tintura de orégano e 50% tintura de sucupira. Os resultados demonstraram efeito antibacteriano e sinérgico das tinturas ao realizar a combinação de 50% tintura de orégano e 50% tintura de sucupira.

Palavras-chave: Extrato vegetal; Sinergismo; Resistência antibacteriana

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	4
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	5
2.1 E.Coli	5
2.2 Resistência Antibacteriana	6
2.3 Extrato Vegetal	6
2.4 Efeito Antimicrobiano de Extratos Vegetais	7
2.5 Orégano	8
2.6 Sucupira	8
2.7 Sinergismo	8
3. METODOLOGIA	9
3.1 Preparo dos inóculos de Escherichia Coli para teste in vitro	9
3.2 <i>Preparo dos inóculos e tintura para teste nas placas de Petri</i>	9
3.3 <i>Avaliação da atividade antimicrobiana</i>	11
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
5. CONCLUSÕES	13
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14

1 INTRODUÇÃO

O uso de antimicrobianos é uma prática amplamente difundida na medicina, oferecendo tratamentos eficazes para uma variedade de infecções bacterianas, virais, fúngicas e parasitárias, segundo a Organização Mundial da Saúde. No entanto, o uso inadequado e excessivo desses medicamentos tem levado a um crescente problema de resistência antimicrobiana (RAM), uma das maiores ameaças à saúde pública no século XXI (O'NEILL, 2016).

A resistência antimicrobiana ocorre quando os microrganismos, como bactérias, desenvolvem a capacidade de resistir aos efeitos dos antimicrobianos, tornando os tratamentos menos eficazes ou mesmo ineficazes (VENTOLA, 2015).

Essa resistência pode estar conectada ao uso de doses terapêuticas e subterapêuticas de antibióticos em animais de criação, bem como à inclusão de aditivos nas rações para estimular o crescimento desses animais. Além disso, está também associada à utilização indiscriminada de antibióticos em comunidades e em hospitais (DOS SANTOS, 2023).

A Organização Mundial da Saúde afirma que a pesquisa e o desenvolvimento de novos antimicrobianos são fundamentais para garantir a disponibilidade contínua de opções de tratamento eficazes.

O uso de extratos com ação antimicrobiana resulta da capacidade de combater bactérias como a E.Coli. Considerados como aditivos, os produtos extraídos das plantas possuem uma variedade de efeitos benéficos ao animal. Segundo HASHEMI & DAVOODI (2011), beneficiando o desempenho animal; modificando a microbiota intestinal por meio do controle de agentes patogênicos, melhorando a capacidade digestiva do intestino delgado, devido ao efeito colateral indireto dos fitogênicos de estabilizar a população microbiana no trato gastro intestinal, estimulando também a produção de enzimas digestivas e a circulação sanguínea, inibindo a oxidação de moléculas, reduzindo a pressão bacteriana, fúngica e parasitária no trato gastrointestinal, e assim, melhorando a imunidade e absorção de nutrientes pelas aves.

BONA et al. (2012), demonstrou que frangos de corte contaminados com Salmonella Enteritidis e alimentados com dietas contendo 0,1g/kg de uma mistura comercial, a base de óleos essenciais de orégano (carvacrol), alecrim (cineol), canela (cinemaldeído) e extrato de pimenta vermelha (capsaicina), apresentaram maior altura de vilos e maior relação

vilo/crípta do duodeno em relação ao grupo controle aos 24 dias de idade, sugerindo maior capacidade de absorção dos nutrientes e maior capacidade de renovação celular.

No estudo conduzido por Pereira, que tinha como objetivo avaliar a capacidade antimicrobiana de três distintas amostras de tintura derivadas da planta *Hymenaea courbaril* contra a bactéria *Escherichia coli*, foi empregado o método de difusão em ágar para confirmar a eficácia antibacteriana da tintura. Com base nos experimentos realizados, os resultados indicaram que a tintura teve a capacidade de inibir o crescimento da bactéria, resultando em halos de inibição com uma medida média de cerca de 11 mm.

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos vegetais de tintura de *Lippia organoides* e *Pterodon emarginatus* frente a *Escherichia Coli*, individualmente e combinadas, a fim de ampliar as opções de combate contra a bactéria, para diminuir o uso de antimicrobianos que relatam resistência bacteriana ou que podem vir a causar resistência bacteriana.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 E.Coli

A *Escherichia Coli* (*E.Coli*) é uma bactéria gram-negativa que tem sido objeto de extenso estudo devido à sua ampla distribuição em diferentes ambientes, incluindo tratores intestinais de humanos e animais (BLOUNT, 2017). Sua célula é envolta por uma membrana plasmática que delimita o citoplasma, onde ocorrem as principais atividades metabólicas (SILHAVY, 2010).

A *Escherichia coli* é um enteropatógeno de relevância, desencadeando surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) em âmbito global. De acordo com a ANVISA (2019), a *E. coli* figura como o sexto patógeno mais comumente identificado em casos de bacteremias hospitalares, apresentando 596 isolados resistentes. Além disso, em unidades de terapia intensiva (UTI) para adultos no Brasil, essa bactéria também é associada a infecções do trato urinário (ITU), com 2639 isolados resistentes.

Já em aves, a *Escherichia Coli* é responsável por causar colibacilose, septicemia e aerossaculite, sendo uma das principais causas de condenações de carcaças na indústria da carne avícola (SANTOS, 2019). Em um estudo realizado por Lima e colaboradores, durante o período de 2012 a 2019, encontraram o valor de 4,52% de carcaças condenadas por

septicemia, causadas pela E.coli, bactéria gram-negativa, causadora de infecções principalmente em aves jovens, podendo ocorrer também transmissão vertical por contaminação da casca do ovo.

2.2 Resistência Antibacteriana

O tratamento das infecções invasivas causadas pela E. coli geralmente envolve o uso de antibióticos de amplo espectro, conforme recomendado pelo "Infectious Diseases Society of America Clinical". Entre as opções recomendadas encontram-se as cefalosporinas e quinolonas. No entanto, nos últimos tempos, tem ocorrido um aumento na incidência de resistência a esses antimicrobianos, constituindo um significativo desafio para a saúde pública.

Em países desenvolvidos, essa resistência pode estar conectada ao uso de doses terapêuticas e subterapêuticas de antibióticos em animais de criação, bem como à inclusão de aditivos nas rações para estimular o crescimento desses animais (DOS SANTOS, 2023)

Nos países em desenvolvimento, essa resistência está associada à utilização indiscriminada de antibióticos em comunidades e em hospitais (DOS SANTOS, 2023). No que diz respeito aos animais, apesar dos esforços para reduzir a utilização inadequada, ainda ocorre a inclusão de antibióticos ou compostos contendo moléculas presentes em antimicrobianos na alimentação animal. Isso é feito com o objetivo de aprimorar o desempenho e aumentar a produtividade dos animais, ou ainda para prevenir problemas nas fases iniciais de vida dos mesmos (JAYOL, 2017).

2.3 Extrato Vegetal

A Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2020 edition) define extratos vegetais como produtos obtidos pela extração apropriada das partes das plantas usando solventes adequados. Segundo Trease and Evans' Pharmacognosy (Evans, 2009), um texto amplamente utilizado na área farmacêutica, pode-se citar como exemplo, as tinturas; consideradas um tipo de extrato vegetal preparadas dissolvendo as partes da planta em solventes como álcool etílico.

2.4 Efeito Antimicrobiano de Extratos Vegetais

Segundo o Maia (2020), foi evidenciado que as biomoléculas que apresentam capacidade de efeito antimicrobiano, rompem a integridade da membrana celular e facilitam a liberação de componentes intracelulares vitais e inibem enzimas alvo.

Entende-se que a maioria dos extratos vegetais consiga atividade antimicrobiana ao interagir com processos associados à membrana celular bacteriana, incluindo transporte de elétrons, gradientes de íons, translocação de proteínas, fosforilação e outras reações dependentes de enzimas (FERREIRA, 2022)

Assim é o caso dos compostos timol e carvacrol. Estes têm a capacidade de interferir nas membranas celulares dos microrganismos, levando à ruptura da membrana e subsequente morte celular. Várias cepas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, assim como fungos e vírus, têm sido alvo de estudos devido à atividade antimicrobiana desses compostos (FERREIRA, 2022).

Rhayour et al.,(2003) investigou o efeito do timol e carvacrol em cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*. Os resultados demonstraram que ambos os compostos foram eficazes em inibir o crescimento das cepas resistentes, indicando seu potencial como alternativas terapêuticas contra infecções por *S. aureus* resistente a antibióticos.

Resultados promissores também foram relatados por Sharifi-Rad et al. (2020), que investigaram os efeitos antimicrobianos da tintura de orégano contra patógenos alimentares, ressaltando seu potencial na indústria de alimentos.

CRUZ et al. (2011) verificaram que a adição de diferentes extratos de pimenta (capsaicina), canela (cinamaldeído) e orégano (carvacrol) ou/e extrato de alho (alicina) na dieta de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, favoreceu o desempenho das aves, ao serem incorporados nas rações em substituição ao antibiótico

REIS et al. (2018), também demonstrou que frangos de corte com dietas contendo uma combinação comercial de óleos essenciais, como carvacrol, timol e aldeído cinâmico, como alternativa para substituição dos antibióticos, não causam danos no nível de produtividade zootécnica das aves.

Os estudos revisados destacam consistentemente o efeito antimicrobiano do timol e carvacrol contra uma variedade de microrganismos patogênicos. Assim, os extratos vegetais de escolha, devem possuir a habilidade de romper a membrana celular da bactéria gram-negativa, como é especialmente o caso da *Lippia Origanoides* (orégano).

2.5 Orégano

Entende-se que a maioria dos extratos vegetais exerça sua atividade antimicrobiana ao interagir com processos associados à ruptura da membrana celular bacteriana, facilitando a liberação de componentes intracelulares vitais e inibindo enzimas alvo. (MAIA, 2020)

Oliveira et al (2007) identificaram que o óleo de *Lippia origanoides* tem ação contra fungos. Tal óleo apresenta em sua composição principalmente carvacrol e timol, demonstrando as atividades biológicas dos monoterpenos (timol e carvacrol) e seus mecanismos de ação, corroborando com outros autores. O mecanismo de ação do timol e do carvacrol estão associados com a capacidade que estes apresentam em atravessar a membrana celular. Assim, causando uma perturbação na membrana plasmática do microrganismo (ALMEIDA, 2015).

2.6 Sucupira

A sucupira é uma planta facilmente encontrada nos cerrados brasileiros e amplamente utilizada na medicina popular para o tratamento de reumatismo, dores de garganta, disfunção respiratórias, além de possuir atividades anti inflamatórias, analgésica, depurativa, e antimicrobiana (ROCHA, 2022).

Em um estudo realizado por Ribeiro et al. (2018), os pesquisadores avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato da sucupira contra diferentes cepas de bactérias, incluindo *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os resultados revelaram que o extrato exibiu efeitos inibitórios significativos, sugerindo seu potencial no combate a infecções bacterianas.

2.7 Sinergismo

O sinergismo de tinturas vegetais, onde múltiplos componentes ativos de diferentes plantas são combinados, tem sido explorado por sua potencial capacidade de aumentar os efeitos terapêuticos. Em um estudo realizado por Pombo (2018), conclui que os resultados de efeito antimicrobiano das misturas binárias de óleos essenciais indicam que seu efeito depende não apenas dos constituintes químicos presentes nos óleos, mas também das diferentes proporções e concentrações em que eles se encontram em cada mistura; bem como da susceptibilidade do organismo alvo.

3 METODOLOGIA

3.1 *Preparo dos inóculos de Escherichia Coli para teste in vitro*

As amostras provenientes de isolados de E.Coli foram cedidas pelo Laboratório LABOCIEN do CEUB.

Logo, utilizando-se solução salina, foi realizada a preparação das suspensões bacterianas até que alcançasse a escala de 0,5 de MacFarland, em que se tem um valor aproximado de $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC/mL).

3.2. *Preparo dos inóculos e tintura para teste nas placas de Petri*

Para a avaliação da atividade antimicrobiana foi utilizado o método de difusão em Ágar conforme norma M2-A8 do Clinical and Laboratory Standards Institute– CLSI/NCCLS. As suspensões microbianas foram semeadas na superfície de ágar Mueller-Hinton (Difco).

Assim, a E.coli ativada foi coletada e transferida a um tubo de ensaio com 5ml de solução salina (soro fisiológico 0,9%).

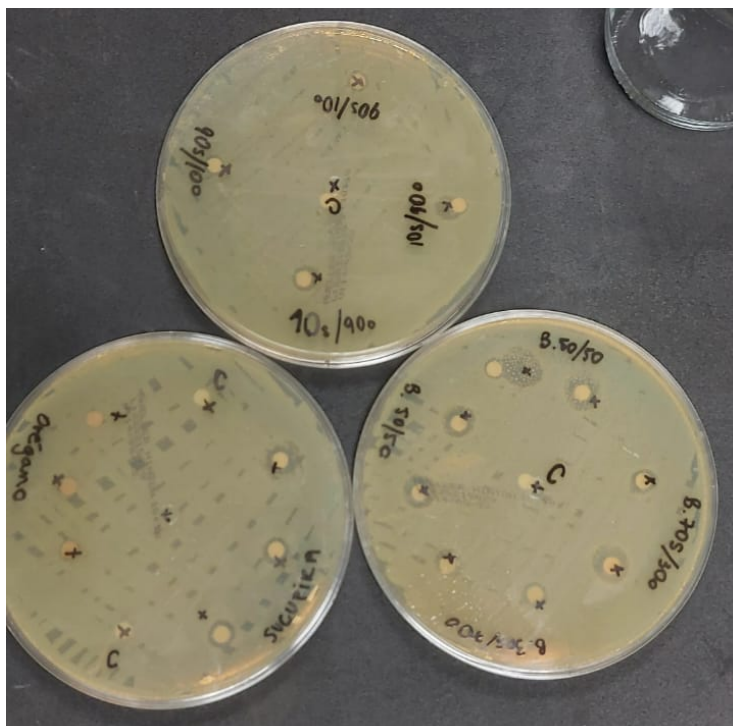
Foi realizado o processo de homogeneização manualmente, até que alcançasse a escala de 0,5 de MacFarland, em que se tem um valor aproximado de $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC/mL), de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute.

Um swab estéril foi mergulhado no tubo de ensaio diluído com E.coli e em seguida semeado na superfície de ágar Mueller-Hinton (Difco) na placa de Petri.

Após 5 minutos, tempo para a secagem, discos de 5mm de papel de filtro embebidos com as tinturas vegetais foram colocados sobre a superfície do ágar inoculado.

Foram embebidos 3 discos na porcentagem de 100% tintura de orégano, 3 discos na porcentagem de 100% tintura de sucupira, 2 discos na porcentagem de 90% tintura de orégano e 10% tintura de sucupira, 2 discos na porcentagem de 90% tintura de sucupira e tintura de 10% oregano, 2 discos na porcentagem de 70% tintura de orégano e 30% tintura de sucupira, 2 discos na porcentagem de 70% tintura de sucupira e 30% tintura de orégano, e 4 discos na porcentagem de 50% tintura de orégano e 50% tintura de sucupira (figura 1).

Figura 1 - Placas de E Coli com discos embebidos em tintura de orégano e sucupira



Fonte: Arquivo Pessoal (2023)

As placas inoculadas foram mantidas em temperatura ambiente durante 20 minutos para permitir a difusão do extrato e, posteriormente, incubadas em 37 °C por 24 h.

A marca das tinturas utilizadas foram da SM EMPREENDIMENTO PRODUTOS FARMACÊUTICOS, onde o processo realizado para obtenção da tintura foi por percolação e maceração, utilizando 20% de massa verde e dissolvida em álcool e água.

Foi requisitado um certificado de análise das tinturas, onde todos os padrões se encontraram em conformidade (figura 2).

Figura 2 - Certificado de Análise da tintura de orégano

34781 FC1
SM EMPREENDIMENTOS FARMACÉUTICOS LTDA FE

CERTIFICADO DE ANÁLISE

3423 R E. B. V. M.

Insumo:	Tintura De Orégano	Data de Análise:	23-11-2022
Lote Interno:	22K21-B046-097722	Lote Fabricante:	9954-3
Data de Fabricação:	14-10-2022	Data de Validade:	14-10-2024
Origem:	Brasil	Procedência:	Brasil
Condições de Armazenamento:	Temperatura Ambiente	Ordem de Fracionamento:	097722

DCB:		DCI:	
CAS:		Peso Molecular:	
Fórmula Molecular:			
	-		
	-		

Observações:	Parte Utilizada:	Folha	Nome Científico:	Origanum vulgare
--------------	------------------	-------	------------------	------------------

Testes	Especificações	Resultados	Unidade	Referências
Aspecto	Líquido de baixa viscosidade.	Conforme		Fabricante
Cor	Castanho a castanho esverdeado.	Conforme		Fabricante
Odor	Característico.	Conforme		Fabricante
pH	5,0 ± 2,0	5,2		Fabricante
Teor alcoólico	60 ± 20	56	%	Fabricante
Densidade	0,900 ± 0,150	0,924		Fabricante
Solubilidade	Solúvel em bases alcoólicas.	Conforme		Fabricante
Solvente de extração	Alcool etílico/ Água.	Conforme		Fabricante
Relação de mat. prima vegetal	Derivado vegetal = 20	Conforme	%	Fabricante
Processo de produção	Percolação/ Maceração.	Conforme		Fabricante
Testes microbiológicos		Ausência de crescimento	UFC/mL	Fabricante
Contagem bacteriana total	≤ 10000	Ausência de crescimento	UFC/mL	Fabricante
Cont. bolores e leveduras	≤ 100	Ausência de crescimento	UFC/mL	Fabricante

* Resultados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade SM EMPREENDIMENTOS FARMACÉUTICOS LTDA. E os demais foram transcritos conforme certificado de análise do fabricante.

Conclusão:

Aprovado (X) pH = 5,2
Reprovado () d = 9918

3.3 Avaliação da atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi avaliada pela medida do diâmetro dos halos de inibição do crescimento microbiano em torno dos poços. Os resultados da susceptibilidade aos produtos vegetais são expressos em termos de tamanho de diâmetro do halo de inibição do crescimento microbiano, utilizando a metodologia de análise do diâmetro do halo adaptada por Ayres. Caso o halo se apresente menor que 9 mm será considerado que a bactéria é resistente ao extrato vegetal; halo de 9-14 mm, a bactéria apresenta resistência moderada; halo de 14 a 17 mm é considerado que a bactéria é sensível, e halo maior que 17 mm, a bactéria apresenta alta sensibilidade, será excluído da avaliação os 5 mm referentes ao diâmetro dos poços.

Os halos foram calculados mediante a média dos resultados de cada halo, e suas respectivas porcentagens de misturas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela a seguir demonstra o tamanho dos halos em mm a partir da aplicação individual e combinação das tinturas de orégano e sucupira frente à E.Coli em placas petri.

Tabela 1 - Resultados da aplicação individual e combinação das tinturas de orégano e sucupira frente à E.Coli.

% da mistura das tinturas	100% orégano	100% sucupira	90% orégano e 10% sucupira	90% sucupira e 10% orégano	70% orégano e 30% sucupira	70% sucupira e 30% orégano	50% orégano e 50% sucupira
tamanho do halo em mm	1mm	5mm	5mm	2,5mm	4mm	5,5mm	9mm

Segundo a metodologia de análise do diâmetro do halo adaptada por Ayres, apenas a mistura de 50% orégano e 50% sucupira demonstrou que a bactéria apresenta resistência moderada. As outras misturas e aplicação individuais da tintura foram consideradas que a bactéria é resistente.

Este resultado não correlata com as pesquisas realizadas por FERREIRA (2022), Sharifi-Rad et al. (2020), ALMEIDA (2015), CRUZ et al. (2011), onde afirmam que a composição do orégano (timol e carvacrol) possuem efeito antimicrobiano. O disco contendo 100% de tintura de orégano foi o que apresentou o menor halo.

Tampouco, os resultados do presente trabalho não correlata com o resultado da pesquisa realizada por Pombo (2018), onde conclui que as misturas binárias dos óleos essenciais, um tipo de extrato vegetal, utilizadas em sua pesquisa, na mesma proporção, não apresentaram sinergismo. Foram necessárias maiores concentrações de orégano e menores de cravo para apresentarem sinergismo e potencializar seu efeito antibacteriano. Já nos resultados do presente trabalho, o efeito antimicrobiano foi potencializado quando realizado a mistura de 50% de tintura de orégano e 50% tintura de sucupira, apresentando o maior halo (9mm).

Os resultados obtidos nesta pesquisa não apresentam correlação com os achados da investigação conduzida por GONÇALVES ET.AL.(2005) apud Ferreira ET. AL. (2014), onde afirmam que independentemente do tipo do produto obtido (óleo ou extrato) das sementes

da sucupira, os mesmos não apresentam atividade antimicrobiana frente à *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*.

A divergência mencionada previamente em relação à atividade antimicrobiana entre os estudos pode ser esclarecida considerando a abordagem proposta por Ferreira et al. (2014). Essa divergência pode ser atribuída a diversos fatores, incluindo a seleção de diferentes métodos de extração. Além disso, as linhagens microbianas utilizadas nos experimentos também podem manifestar perfis de sensibilidade distintos em relação aos agentes antimicrobianos, de acordo com a análise do mesmo autor.

5 CONCLUSÃO

Assim sendo, os estudos revisados destacam consistentemente o efeito antimicrobiano de extratos vegetais contra uma variedade de microrganismos patogênicos. Já no presente trabalho, destaca-se o efeito positivo contra a *E. Coli* pela tintura de sucupira e seu sinergismo com a tintura de orégano.

A atividade antimicrobiana desses compostos os torna candidatos promissores para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos para humanos e animais, especialmente em um contexto de crescente preocupação com a resistência aos antimicrobianos, representam um valor imensurável para a sociedade, contribuindo expressivamente para a qualidade de vida da população.

A problemática da resistência antimicrobiana representa um desafio global urgente. O uso responsável de antimicrobianos e a conscientização da população são essenciais para preservar a eficácia desses medicamentos vitais. A colaboração entre governos, profissionais de saúde e indústria farmacêutica é imprescindível para garantir um futuro em que as infecções possam ser tratadas com eficácia e segurança.

Poucas são as pesquisas realizadas utilizando a tintura de sucupira e seu sinergismo com outras tinturas, no entanto, mais pesquisas são necessárias para compreender completamente os mecanismos de ação, a toxicidade, resistência e a eficácia desses compostos em diferentes aplicações e situações.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. O'Neill, J. (2016). **Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. The review on antimicrobial resistance.**
2. Ventola, C. L. (2015). **The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. P & T: a peer-reviewed journal for formulary management**, 40(4), 277-283.
3. dos Santos, Carla Adriana. **Caracterização fenotípica e molecular de isolados de *Salmonella spp.* e *Escherichia coli* Patogênica Extraintestinal resistentes às polimixinas.** Diss. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, 2023.
4. HASHEMI, S. R.; DAVOODI, H. **Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition.** Veterinary Research Communications, Oxford, v. 35, n. 2, p. 169–180, 2011.
5. Bona T. D. M. M., Pickler L., Miglino L. B., Kuritza L. N., Vasconcelos S. P., Santin E. **Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte.** Pesquisa Veterinária Brasileira. 2012; 32(5): 411-418.
6. Pereira IS, Souza JBP. **Eficácia antimicrobiana da tintura de jatobá contra a *Escherichia coli*.** In: Congresso Brasileiro de Ciências da Saúde. Campina Grande: Editora Realize; 2017. Disponível em: http://www.editorarealize.com.br/revistas/conbracis/trabalhos/TRABALHO_EV071_MD4_SA3_ID657_01052017172757.pdf. Acessado em 2023 (7 jun).
7. Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). **The bacterial cell envelope. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, 2(5), a000414. Blount, Z. D. (2017). The unexhausted potential of *E. coli*. eLife, 6, e28662.
8. Santos, Milena Mendonça dos. **"Incidência de *Mycoplasma gallisepticum* e *Mycoplasma gallisepticum* e caracterização microbiológica e histopatológica de lesões de aerossaculite em amostras de frangos de corte da região do Distrito Federal."** (2019).
9. Dellit, Timothy H., et al. **"Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship."** *Clinical infectious diseases* 44.2 (2007): 159-177.
10. Jayol, Aurélie, et al. **"Detection of colistin-resistant Gram-negative rods by using the SuperPolymyxin medium."** *Diagnostic microbiology and infectious disease* 92.2 (2018): 95-101.

11. Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China. (2020). **Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2020 Edition), Volume I.**
12. Sharifi-Rad, M., Mnayer, D., Morais-Braga, M. F. B., Carneiro, J. N. P., Bezerra, C. F., Coutinho, H. D. M., ... & Iriti, M. (2020).
13. Evans, W. C. (2009). **Trease and Evans' Pharmacognosy (16th ed.)**. Saunders Ltd.
14. Maia, Margarida Maria Esteves. **A atividade biológica dos óleos essenciais, sua aplicação e potencialidades**. Diss. 2020.
15. OLIVEIRA, D. R. et al. **Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides*** H. B. K. Food Chem., v. 101, p. 236-240, 2007.
16. Almeida, Regiamara Ribeiro. **"Mecanismos de ação dos monoterpenos aromáticos: timol e carvacrol."**
17. São João del-Rei: Universidade Federal de São João del-Rei (2015).
18. Rocha, Fábila Anaiane Barbosa, and Daniele Michelin Paganotte. **"USO DO ÓLEO DE SUCUPIRA NA TERAPÊUTICA."** *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação* 8.9 (2022): 561-572.
19. RIBEIRO, V. P. et al. **Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: A review**. *Pharmaceutical Biology*, v. 56, n. 1, p. 253–268, 2018.
20. Pombo, Joseane Cristina Pinheiro, et al. **"Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos."** *Segurança Alimentar e Nutricional* 25.2 (2018): 108-117.
21. FERREIRA, S.B, et al. **Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial desucupira (*Pterodon emarginatus* Vogel)**. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, [S.L.],v. 16, n. 2, p.225-230, jun. 2014.
22. Ferreira, Icaro Denes Lopes. **"Atividade dos óleos essenciais carvacrol e timol no controle do biofilme dental e gengivite: uma revisão de literatura."** (2022).
23. RHAYOUR K., et al. **The mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis***. *Journal Essential Oil Research.*, v. 15, p. 356–362, 2003.
24. CRUZ, V. A. R.; PETROLI, T. G.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; ARAÚJO, V. A. G.; MESSIAS, R. K. G. **Desempenho e energia metabolizável de dietas contendo extratos herbais para frangos de corte**. In: 48ª REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Belém - PA, 2011. Anais...Viçosa: SBZ, 2011.
25. REIS, J. H.; GEBERT, R. R.; BARRETA, M.; BALDISSERA, M. D.; SANTOS, I. D.; WAGNER, R.; CAMPIGOTTO, G.; JAGUEZESKI, A. M.; GRIS, A.; LIMA, J. L.F. de. **Effects of**

phytogenic feed additive based on thymol, carvacrol and cinnamic aldehyde on body weight, blood parameters and environmental bacteria in broilers chickens. *Microbial Pathogenesis*, v. 125, p. 168-176, dez. 2018.