

UNIVERSIDADE CATÓLICA DOM BOSCO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

ANNY GABRIELLY ACOSTA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Schinus terebinthifolia, *Psidium guajava* E *Hymenaea courbaril* FRENTE
BACTÉRIAS PATOGÊNICAS**

Campo Grande-MS

2021

ANNY GABRIELLY ACOSTA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Schinus terebinthifolia, *Psidium guajava* E *Hymenaea courbaril* FRENTE A
BACTÉRIAS PATOGÉNICAS**

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM BIOTECNOLOGIA, no Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Católica Dom Bosco – Área de Concentração: Biotecnologia

Orientador: Dr. Ludovico Migliolo

Coorientadora: Dra. Jannaína
Velasques da Costa Pinto

Campo Grande

2021

S586a Silva, Anny Gabrielly Acosta da
Avaliação da atividade antibacteriana dos óleos essenciais
de *Schinus terebinthifolia*, *Psidium guajava* E *Hymenaea*
courbaril frente bactérias patogênicas / Anny Gabrielly
Acosta da Silva; Orientada pelo Prof. Dr. Ludovico
Migliolo.-- Campo Grande, MS : 2021.
50 f.: ill.;

Dissertação (mestrado em biotecnologia) - Universidade
Católica Dom Bosco, Campo Grande, 2021
Inclui bibliografia

1. Aroeira. 2. Antimicrobianos. 3. Jatobá. 4. Goiaba
I.Migliolo, Ludovico. II. Título.

Autora: Anny Gabrielly Acosta da Silva

Orientador: Prof. Dr. Ludovico Migliolo

Coorientadora: Profª. Drª. Jannaina Velasques da Costa Pinto

TITULAÇÃO: Mestre em Biotecnologia

Área de concentração: Biotecnologia.

APROVADO em 05 de abril de 2021.

A presente defesa foi realizada por webconferência. Eu, Ludovico Migliolo, como presidente da banca assinei a ata de aprovação com o consentimento de todos os membros, ainda na presença virtual destes. A Webconferência foi gravada e o link (<https://meet.google.com/zow-odis-whd>) ficará disponível por três anos a partir da data de realização da mesma.



Dr. Ludovico Migliolo (orientador) – UCDB
Drª. Jannaina Velasques da C. Pinto (coorientadora) - UFSB
Drª. Danieli Fernanda Buccini - UCDB
Dr. Artur Campos Dália Maia - UFPB

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por sempre me capacitar a alcançar meus objetivos;

À minha família, por todo amor, carinho, cuidado e apoio durante esse tempo de estudo;

Ao meu parceiro de vida Gustavo Matias, por todo cuidado que teve comigo nesse período de estudo e correria;

Ao professor Dr. Ludovico Migliolo pela orientação, por sempre me incentivar a persistir nos meus objetivos, por não me deixar desistir e por sempre acreditar no meu potencial;

Às minhas amigas de graduação Andreza, Bruna, Claudia e Francine, por sempre me apoiarem;

Às minhas amizades construídas ao longo desse tempo de mestrado, Gisella, Rodrigo, Caroline e Joelma;

À minha parceira de mestrado Giovanna Pieri por partilhar comigo esse momento tão importante;

À minha amiga Alexya Sandim por toda ajuda e paciência principalmente nos últimos meses de pesquisa;

A todos os envolvidos em pesquisas no laboratório S-Inova Biotech, pelos conhecimentos partilhados;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro;

À Universidade Católica Dom Bosco que ofereceu espaço adequado durante o período acadêmico.

Minha sincera gratidão!

BIOGRAFIA

Anny Gabrielly Acosta da Silva, natural de Campo Grande – Mato Grosso do Sul, nascida aos cinco dias do mês de setembro de mil novecentos e noventa e sete. É filha do meio de Ilza Acosta e José Ferreira da Silva. Possui graduação em Ciências Biológicas – Bacharel pela Universidade Católica Dom Bosco no ano de 2018. Ingressou no Programa de Mestrado em Biotecnologia na Universidade Católica Dom Bosco no ano de 2019.

RESUMO

O aumento da resistência de cepas bacterianas aos antibióticos disponíveis e o decréscimo contínuo no número de novos antimicrobianos gera uma constante busca por novos compostos, pois essa problemática vem sendo mostrada cada vez mais como um desafio para a saúde pública mundial. Neste contexto, decorre a necessidade de desenvolver novas estratégias para o tratamento e profilaxia de doenças infecciosas. Os óleos essenciais (OE) vêm ganhando espaço nesta busca por novos antimicrobianos. *Schinus terebinthifolia*, *Psidium guajava* e *Hymenaea courbaril* são plantas que se destacam em função de propriedade biológicas terapêuticas e também no uso da medicina popular. Avaliação e estudo das propriedades biológicas se faz necessário para a compreensão e validação da sua eficácia clínica. Portanto, o presente estudo avaliou a atividade antibacteriana e hemolítica dos OE de *S. terebinthifolia*, *P. guajava* e *H. courbaril*. A extração do OE destas plantas foi feito por método de hidrodestilação e se obteve o rendimento de 0,70%; 0,34% e 0,70% para *S. terebinthifolia*, *P. guajava* e *H. courbaril*, respectivamente. A atividade antibacteriana de OE *S. terebinthifolia*, *P. guajava* e *H. courbaril* foi avaliado por meio de microdiluição em caldo com Concentração Inibitória Mínima (CIM) Concentração Inibitória Mínima de Biofilme (CIMB) e frente cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Escherichia coli* KPC+. A toxicidade do OE foi analisada por ensaio hemolítico. O OE *S. terebinthifolia* demonstrou potencial antibacteriano para *E. coli* KPC+. Na proporção de 1:100 *P. guajava* para *S. aureus* na proporção de 1:200 e 1:400 e *H. courbaril* para *S. aureus* na proporção 1:200 e 1:400. Para a formação de biofilme foi observado inibição de crescimento no OE de *S. terebinthifolia* 80% para *E. coli* KPC+; *P. guajava* 50% para *E. coli* KPC+ e *E. coli* e *H. courbaril* 30% para *E. coli* KPC+. Com exceção de *S. terebinthifolia* na proporção de 1:1600 de diluição, todos os OE em todas as amostras apresentaram hemólise acima de 50%, sendo considerado um risco tóxico para a membrana das hemárias. Estes resultados impulsiona a realização de outros estudos para a verificação da eficácia e utilização de outros métodos.

Palavras-chave: Óleo essencial; aroeira-vermelha; goiaba; jatobá potencial antimicrobiano.

ABSTRACT

The increase in resistance of bacterial strains to the available antibiotics and the continuous decrease observed in the number of new antimicrobials generates a constant search for new compounds, as this problem has been increasingly shown as a challenge for public health worldwide. In this context, there is a need to develop new strategies for the treatment of these pathogens. Essential oils (OE) have been gaining ground in this search for new antimicrobials. *Schinus terebinthifolius*, *Psidium guajava* and *Hymenaea courbaril* are plants that stand out due to their biological therapeutic properties and also in the use of folk medicine. Evaluation and study of biological properties is necessary for the understanding and validation of its clinical efficacy. Therefore, the present study evaluated the antibacterial and hemolytic activity of the EE of *Schinus terebinthifolius*, *Psidium guajava* and *Hymenaea courbaril*. The extraction of OE from these plants was done by the hydrodistillation method and a yield of 0.70% was obtained; 0.34% and 0.70% for *Schinus terebinthifolius*, *Psidium guajava* and *Hymenaea courbaril*, respectively. The antibacterial activity of OE *Schinus terebinthifolius*, *Psidium guajava* and *Hymenaea courbaril* was evaluated by microdilution in broth with Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Inhibitory Biofilm Concentration (CIMB) and against strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* KPC+ and *Escherichia coli*. The toxicity of OE was analyzed by hemolytic assay. The OE *Schinus terebinthifolius* demonstrated antibacterial potential for *E. coli* KPC +. At 1:100 proportion, *Psidium guajava* for *S. aureus* at 1:200 and 1:400 proportion and *Hymenaea courbaril* for *S. aureus* at 1:200 and 1:400 proportion. For biofilm formation, growth inhibition was observed in the OE of *Schinus terebinthifolius* 80% for *E. coli* KPC +; *Psidium guajava* 50% for *E. coli* KPC + and *E. coli* and *Hymenaea courbaril* 30% for *E. coli* KPC +. With the exception of *S. terebinthifolius* at a proportion of 1:1600 dilution, all EO in all samples showed hemolysis above 50%, being considered a toxic risk for the red blood cell membrane. These results encourage further studies to verify the effectiveness and use of other methods. These results stimulate the accomplishment of other studies for the verification of the effectiveness and use of other methods.

Key-words: Essential oil; red peppermint; guava; jatoba; antimicrobial potential.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Rendimento da extração de <i>Schinus terebinthifolia</i> , <i>Psidium guajava</i> e <i>Hymenaea courbaril</i>	29
Tabela 2. Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração inibitória mínima de biofilme (CIMB) dos óleos essências de <i>S. terebinthifolia</i> , <i>P. guajava</i> e <i>H. courbaril</i> frente <i>E. coli</i> (KPC+), <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	35
Figura 1. Locais e mecanismos de ação de óleos essenciais: degradação da parede celular, danos as proteínas de membrana, extravasamento de conteúdo celular, coagulação do citoplasma e depleção da força motriz de prótons. Fonte: Adaptação de Arjin e Tapingkae (2014)	17
Figura 2. <i>Schinus terebinthifolius</i> : A: ramo de frutos; B: ramos de flores e C: tronco da árvore de um indivíduo. Fonte: Reflora (2020).....	19
Figura 3. <i>Psidium guajava</i> representada por A: ramo de frutos; B: ramo de flor e C: individuo de goiaba Fonte: Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil e Lista da Flora do Brasil 2020. 21	21
Figura 4. <i>Hymenaea courbaril</i> representada por A: ramo de flores e botões florais; B: ramo de frutos e C: individuo de jatobá. Fonte: Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil e Lista da Flora do Brasil 2020.	24
Figura 5. Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial de <i>S. terebinthifolius</i> frente ao crescimento bacteriano de (A) <i>E. coli</i> KPC+; (B) <i>S. aureus</i> e (C) e <i>E. coli</i>	30
Figura 6. Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial de <i>P. guajava</i> frente ao crescimento bacteriano de (A) <i>E. coli</i> KPC+; (B) <i>S. aureus</i> e (C) e <i>E. coli</i>	31
Figura 7. Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial de <i>H. courbaril</i> frente ao crescimento bacteriano de (A) <i>E. coli</i> KPC+; (B) <i>S. aureus</i> e (C) e <i>E. coli</i>	31
Figura 8. Concentração Inibitória Mínima de biofilme do óleo essencial de <i>S. terebinthifolius</i> frente ao crescimento bacteriano de (A) <i>E. coli</i> KPC+; (B) <i>S. aureus</i> e (C) e <i>E. coli</i>	33
Figura 9. Concentração Inibitória Mínima de biofilme do óleo essencial de <i>P. guajava</i> frente ao crescimento bacteriano de (A) <i>E. coli</i> KPC+; (B) <i>S. aureus</i> e (C) e <i>E. coli</i>	34
Figura 10. Concentração Inibitória Mínima de biofilme do óleo essencial de <i>H. courbaril</i> frente ao crescimento bacteriano de (A) <i>E. coli</i> KPC+; (B) <i>S. aureus</i> e (C) e <i>E. coli</i>	34
Figura 11. Concentração inibitória mínima de biofilme de ciprofloxacina frente a formação de biofilme de ciprofloxacina (A) <i>E. coli</i> KPC+, (B) <i>S. aureus</i> e (C) <i>E. coli</i>	36

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	7
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	9
Resistência Bacteriana	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	10
<i>Escherichia coli</i>	12
Óleos Essenciais	14
<i>Schinus terebinthifolia</i>	18
<i>Psidium guajava</i>	20
<i>Hymenaeae courbaril</i>	22
OJETIVO	26
Geral	26
Especifico	26
METODOLOGIA.....	26
Extração de óleos essenciais	26
Analise microbiológicas.....	27
Determinação da Concentração Inibitoria Mínima (CIM)	27
Concentração Inibitória Mínima de Biofilme (CIMB)	28
Atividade hemolítica	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	40

INTRODUÇÃO

Desde a descoberta do primeiro antibiótico, a saúde pública foi significativamente melhorada pelo desenvolvimento de uma variedade de antibióticos que vem sendo utilizada como arsenal contra infecções bacterianas (KIM et al., 2018). Atualmente, estudos indicam que em torno de 70% das bactérias causadoras de infecções hospitalares apresentam resistência a pelo menos um dos antimicrobianos comumente utilizados para o tratamento dos pacientes (ALVES et al., 2017).

A introdução de fármacos eficientes no tratamento de infecções bacterianas proporcionou um grande avanço na medicina reduzindo o número de mortes causadas por doenças infecciosas (DA COSTA; SILVA JUNIOR, 2017). Entretanto, existem diversos fatores associados à biologia desses organismos que favorecem o surgimento de novas patologias fortalecidos pela plasticidade genética das bactérias e pelas condições de sanidade de diversos locais e ambientes que dificultam a aplicação de compostos eficientes contra os patógenos (GALES et al, 2012), além do uso indiscriminado de antibióticos que tem potencializado a seleção de cepas de bactérias resistentes a esses medicamentos (ANTUNES, 2009).

Neste contexto, a disponibilidade de compostos naturais que possuem atividade antimicrobiana é uma perspectiva para o desenvolvimento de novos antibióticos. Os compostos vegetais com propriedades farmacológicas são constantemente objetos de estudos para o desenvolvimento de novas opções de medicamentos (DUTRA et al., 2016). Essa é uma alternativa estimulada pela OMS, que reforça e enfatiza a necessidade de priorizar pesquisas que levem em conta a efetividade e a segurança do uso de práticas complementares para promoção da saúde pública (DAMATO, 2015).

Os óleos essenciais (OE) extraídos de plantas são qualificados como um importante produto biotecnológico a ser explorado por empresas farmacêuticas e alimentícias (ELSHAFIE; CAMELE, 2017). Os OE são constituídos por produtos orgânicos voláteis de várias classes, como aldeídos, terpenos e compostos fenólicos, sintetizados pelo metabolismo secundário em diferentes

partes das plantas (SWAMY; AKHTAR; SINNIAH, 2016). Muitas pesquisas relataram OE como agentes antimicrobianos eficazes contra diferentes patógenos (EBANI et al., 2018), normalmente esse efeito está intimamente relacionado à capacidade de permeabilizar e/ ou destruir a integridade da membrana, levando ao extravasamento de substâncias intracelulares (TARIQ et al., 2019). Além disso, desde a última década, a atividade antibiofilme dos OEs tem sido amplamente explorada e relatada na literatura (LAGHA et al., 2019).

Três espécies têm demonstrado grande potencial antimicrobiano em relação ao seu OE, são elas: *Schinus terebinthifolia* é uma espécie nativa da Mata Atlântica (NEVES et al., 2016). Devido à sua ecoplasticidade e grande dispersão, a espécie apresenta diversas aplicações, principalmente na medicina popular no tratamento de afecções respiratórias, gastrites e dispepsias (CARVALHO et al., 2015). Estudos identificaram/detectaram moléculas biologicamente ativas, encontradas nesta espécie, que possuem várias propriedades, incluindo atividade antibacteriana frente *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa* e antifugicida frente *Candida* ssp. (SALEM et al., 2018).

Psidium guajava, é uma espécie muito utilizada na medicina popular, a sua casca e folhas têm sido empregada no tratamento de feridas, distúrbios pulmonares, alívio de tosse e etc. (FLORES et al., 2014). Estudos mostram que seus extratos e óleos essenciais mostraram atividade inibitória *in vitro* para diferentes microrganismos, como bactérias do gênero *Streptococcus* e fungos dermatófitos como *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum* e *Sporotrix schenckii* (APARECIDA et al., 2018).

Hymenaea courbaril é utilizada na medicina popular em diversas aplicações como no tratamento no trato respiratório e gástrico, cicatrizante, anti-inflamatório entre outros, ademais estudos confirmaram sua caracterização bioquímica, farmacológica e biológica, como atividades antifúngica, antibacteriana antioxidante, larvicida e moluscicida (COE; ANDERSON, 2016).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Schinus terebinthifolia*, *Psidium guajava* e *Hymenaea courbaril* frente a *E. coli* KPC+, *S. aureus* e *E. coli*.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Resistência Bacteriana

Desde a descoberta do primeiro antibiótico, a saúde pública foi significativamente melhorada pelo desenvolvimento de uma variedade de antibióticos, como por exemplo, a estreptomicina, primeiro agente antimicrobiano eficaz contra a tuberculose (AOKI; UEDA, 2013). De fato, os antibióticos melhoraram e aumentaram a estimativa de vida dos seres humanos e curaram infecções anteriormente consideradas incuráveis. Atualmente, as principais causas de morte nos países desenvolvidos são de doenças não infecciosas, como câncer, doenças cardíacas e doenças cerebrovasculares. O desenvolvimento de vários antibióticos inspirou o conceito de “erradicação da doença” no mundo, no entanto, o uso excessivo de antibióticos possivelmente causou o surgimento de microrganismos multirresistentes (AOKI; UEDA, 2013).

Algumas bactérias desenvolveram estratégias que as tornaram resistentes a muitos antimicrobianos de uso terapêuticos, sendo eles: 1) alteração da permeabilidade da membrana externa que ocorre com restrição de entrada das moléculas hidrofílicas, podendo haver a perda de porinas funcionais com a finalidade de resistência; 2) alteração do sítio alvo que surgem após mutações nos genes que codifica a conformação de receptores, tornando-se resistente ao antibiótico por substituir o alvo original, mas preservando sua função celular; 3) bombas de efluxo que é um mecanismo utilizado pelas bactérias para expulsar da célula substâncias tóxicas, inclusive

os antibióticos; e, 4) inativação enzimática que é a degradação de antibióticos por meio de enzimas. Um dos mais efetivos mecanismos de resistência bacteriana é a produção de enzimas, entre elas, as betalactamases. Nestas, a inativação enzimática do fármaco ocorre com a produção de enzimas que catalisam a hidrólise do anel β -lactâmico, inativando o antimicrobiano e impedindo que ele apresente atividade contra as enzimas responsáveis pela síntese da parede celular bacteriana (BAPTISTA, 2013; RUPPÉ; WORTHER; BARBIER, 2015).

Os biofilmes apresentam um risco gradual de infecções que se associam aos cuidados de saúde (ROSENTHAL et al., 2016). A formação de biofilmes é uma estratégia utilizada pelos microrganismos para, assim, sobreviverem sob condições que são desfavoráveis (MORADALI et al., 2017). Assim, as bactérias possuem uma resistência até mil vezes aos antibióticos do que as células planctônicas do mesmo organismo (OHADIAN; POURMAND; AMINHARATI, 2014; SPEZIALE et al., 2014).

Os principais microrganismos multirresistentes isolados nos ambientes hospitalares são, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* resistente a oxacilina e *Acinetobacter baumannii* resistentes aos carbapenêmicos; *Enterococcus spp.* resistente à vancomicina e enterobactérias produtoras de β -lactamase de espectro ampliado e carbapenemases (MELO et al., 2019).

Staphylococcus aureus

É uma bactéria Gram-positiva, não esporulada, em forma de cocos e que mede aproximadamente 0,5 a 1,5 μm de diâmetro. Seu gênero possui 52 espécies, sendo este patógeno o mais importante na clínica médica (LIMA et al., 2015). Apresentam vários tipos de formatos celulares, que vão desde isolados ou em pares, em cadeias curtas, ou agrupados de forma irregular, devido à irregularidade dos planos de divisão celular (ACOSTA et al., 2017; LEE et al., 2018).

Este microrganismo é capaz de produzir diversos fatores de virulência que promovem adesão aos componentes da matriz extracelular do hospedeiro,

danificando suas células e protegendo a bactéria do sistema imunológico (STAPELS et al., 2014; ACOSTA et al., 2017). Revestindo a camada exterior da célula, estas bactérias contam com uma cápsula de polissacarídeos que tem a capacidade de inibir a fagocitose bacteriana ao envolver as opsoninas, aumentando a virulência e a capacidade de invasão dos tecidos. Ademais, a superfície externa da maioria das cepas de *S. aureus* possui o fator de coagulação, coagulase ligada, que converte para fibrina solúvel, o fibrinogênio, que após se ligar ao mesmo, torna-se um importante fator de virulência (HANZELMANN et al., 2016; LEE et al., 2018).

A parede celular de *S. aureus* possui constituintes capazes de induzir a resposta imunológica do hospedeiro, como o ácido teicoico que ativa a via alternativa do complemento e estimula a produção de citocinas. O peptídeoglicano atua como agente quimiotático para leucócitos, a interleucina-1 é a ligação entre a resposta imune e inflamatória, e as opsoninas facilitam a fagocitose (SOUZA et al., 2016). É a partir destas características que *S. aureus*, invade o hospedeiro, escapa de suas defesas, se instala e se multiplica, levando assim ao aparecimento de infecções. Sua patogenicidade se deve aos fatores de virulência que contribuem de forma efetiva para a colonização bacteriana nos focos de infecção (VANHOMMERIG et al., 2014; LEE et al., 2018).

Um fator de grande importância é a capacidade extrema de resistência desse microrganismo a antimicrobianos. As cepas MRSA surgiram por volta dos anos 60 e se disseminaram nos anos 80 e nos últimos 20 anos foi identificado como um dos patógenos com maior frequência no mundo, além de ter se tornado um dos maiores problemas de saúde pública da atualidade (LE; OTTO 2015; LEE et al., 2018).

As cepas de MRSA produzem uma proteína alterada de ligação à penicilina que diminui a afinidade pela maioria das penicilinas semissintéticas. Essa proteína é codificada por um gene adquirido, o *mecA*, transportado em um elemento genético móvel designado por cassete cromossômico estafilocócico *mec*. Portanto, o surgimento de cepas MRSA se deve à

aquisição e inserção desses elementos genéticos nos cromossomos de cepas suscetíveis (LAKHUNDI; ZHANG, 2018; LEE et al., 2018).

Essa inserção e aquisição da resistência antimicrobiana apresenta um grande desafio ao mundo médico em termos de tratamento e controle de infecções estafilocócicas, porquanto na maioria dos casos, o MRSA é responsável por pelo menos 25 a 50% das infecções por *S. aureus* em ambiente hospitalar. Em razão disto a vancomicina tem sido historicamente a droga escolhida para o tratamento de infecções graves por MRSA, fornecendo cobertura empírica e terapia definitiva. Contudo, seu uso se tornou questionável, por se tratar de um agente antiestafilocócico menos eficaz que o grupo das penicilinas. Além disso, seu uso elevado já levou ao surgimento de novas cepas resistentes em certas partes do mundo (LAKHUNDI; ZHANG, 2018).

Escherichia coli

São bacilos Gram-negativos que mede aproximadamente de 1,1 a 6 μm de diâmetro, pertencente à família Enterobacteriaceae (QUINN et al., 2005). Caracteriza-se por apresentar metabolismo anaeróbio facultativo, pois possui metabolismo respiratório e fermentativo. Sendo capaz de fermentar, com produção de ácido e gás, a lactose, glicose, maltose, manose, manitol, xilose, glicerol, ramanose, sorbitol e arabinose. A fermentação do adonitol, sacarose, salicina, rafinose, ornitina, dulcitol e arginina é variável (KOHLER; DOBRINDT, 2011).

Esta espécie é uma das mais comuns do trato gastrointestinal de animais homeotérmicos, sendo considerada por muito tempo como um microrganismo não patogênico. Entretanto, sabe-se atualmente que algumas cepas se constituem como importantes patógenos para os seres humanos e outros animais (VILA et al, 2016). Cepas de *E. coli* são classificadas como comensais, patogênicas intestinais e extraintestinais, causando enfermidades apenas quando há um comprometimento do sistema imune hospedeiro e são necessárias para a microbiota intestinal, em vista que auxiliam na digestão de

alimentos, síntese e absorção de nutrientes (KOHLER; DOBRINDT, 2011). Em contrapartida, as linhagens de *E. coli* consideradas patogênicas são divididas em seis classes: enterotoxigênicas (ETEC), produtoras de shigatoxina/enterohemorrágicas (STEC/EHEC), enteropatogênicas (EPEC), enteroinvasivas (EIEC), enteroagregativas (EAEC) e de adesão difusa (DAEC) (ROBINS-BROWNE et al, 2016).

Cepas de *E. coli* também são classificadas conforme a sorotipagem, baseada na variação dos seus抗ígenos, sendo os somáticos (O) e os flagelares (H) os mais empregados para esta finalidade. Antígeno O é um oligossacarídeo constituinte do lipopolissacarídeo bacteriano (LPS), importante nos processos inflamatórios. Já o antígeno H é de natureza proteica e forma o flagelo bacteriano quando este está presente. Os抗ígenos capsulares (K) e fimbriais (P) também são utilizados na tipagem sorológica, porém com menor frequência. A sorotipagem de *E. coli* tem aplicação na identificação preliminar dos subpatótipos e possíveis clones patogênicos relacionados a surtos no mundo todo (ROBINS-BROWNE et al, 2016).

A patogenicidade deste microrganismo se manifesta por um mecanismo multifatorial e complexo que envolve vários fatores de virulência, que variam de acordo com o sorotipo. O termo fator de virulência é impreciso, pois um único componente poderia não ser suficiente para transformar uma cepa de *E. coli* em patogênica, mas a combinação com outros determinantes teria um papel decisivo para sua patogenicidade (ROCHA, 2008).

Dentre esses fatores, o potencial patogênico de algumas cepas se deve a ganhos genéticos ocorridos durante o processo evolutivo da espécie, devido à aquisição de genes de virulência, por meio de mutações ou transferência horizontal de material genético contidos em ilhas de patogenicidade no cromossomo bacteriano (PAIs - Pathogenicity Islands) ou em material genético extra-cromossômico (plasmídios), codificam proteínas que possibilitam a colonização, penetração e invasão de novos sítios em seus hospedeiros (SAVIOLLI, 2010).

Óleos Essenciais

A oferta e busca por novos antibióticos no mercado caiu significativamente nos últimos anos (BUCHY et al., 2020). Nos Estados Unidos, existem alguns patógenos que necessitam de novos fármacos, como *S. aureus*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumanii*, *Pseudomonas aeruginosa* e espécies de *Enterobacter* (RICE, 2008). A realidade brasileira não está muito distante, como é observado nas pesquisas de Neves e colaboradores, que descrevem o surgimento de diversos mecanismos de resistência a antimicrobianos tendo assim, a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos para atuarem em tais mecanismos (NEVES et al. 2011).

As plantas são os organismos que mais colaboram para o desenvolvimento de fármacos, delas são extraídos diversos compostos orgânicos ativos. Desta forma, partes das plantas como folhas, raízes, caule e frutos possuem compostos ativos que poderão ser empregadas no desenvolvimento de novos fármacos (ROSA; BARCELOS; BAMPI, 2012).

Desde os primeiros tempos, o homem busca na natureza alternativas que promovam qualidade de vida para aumentar sua sobrevivência e melhoria da sua saúde. O conhecimento sobre as plantas medicinais vem acompanhado a evolução do homem no decorrer dos tempos (LOPES et al., 2010), estudos demonstram que há mais de 3.000 anos as plantas eram utilizadas como medicinais e que 2.000 anos antes do surgimento dos médicos gregos, existia na medicina egípcia o hábito de recorrer às qualidades curativas populares das ervas. Foi uma das primeiras manifestações do homem para entender e usar a natureza (LUSTOSA, 2012).

Para a utilização segura das plantas medicinais é necessário conhecer sua composição química e realizar uma avaliação científica sobre suas propriedades farmacológicas. No entanto, o conhecimento etnobotânico sobre suas aplicações medicinais é de suma importância para a bioprospecção e direcionamento das investigações científicas (FARIA, 2012).

Grande parte dos antibióticos naturais usados na pratica médica surgiu de fungos que pertencem aos gêneros *Cephalosporium*, *Penicillium* e de bactérias dos gêneros *Micromonospora*, *Bacillus* e *Streptomyces*. Os fármacos antimicrobianos de origem semissintética utilizados resultam de compostos como eritromicina, penicilina, tetraciclina e cefalosporina (WRIGHT et al., 2007). Todavia, as plantas podem contribuir no desenvolvimento de novos antibióticos no momento em que é possível que seus metabólitos secundários com atividade antimicrobiana sejam biossintetizados para prevenir a ação de microrganismos patogênicos (FARIA, 2012).

A maioria das plantas contém compostos de atividade antimicrobiana que as protegem contra microrganismos invasores. Os principais grupos de compostos com propriedades antimicrobianas extraídos de plantas incluem alcaloides, terpenoides, substâncias fenólicas e polifenóis (ácidos fenólicos, fenóis simples, flavonas, flavonóis e flavonoides e quinonas,), polipeptídeos, cumarinas e taninos (SWAMY et al., 2016). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), produtos à base de plantas são usados por 80% da população mundial, especialmente em áreas rurais ou em lugares de difícil acesso a medicamentos (TADEG; MOHAMMED; GEBREMARIAN, 2005). Em países desenvolvidos, a medicina alternativa é utilizada com frequência juntamente com a medicina convencional (LEITE, 2008).

O Brasil possui a maior biodiversidade de plantas em todo o mundo e estima-se que possua mais de 20% do total de espécies do planeta. Esta rica biodiversidade é seguida por uma aceitação do uso de plantas medicinais e conhecimento popular. Recentemente, aproximadamente 48% das drogas são desenvolvidas, direta ou indiretamente, à base de produtos naturais, principalmente de plantas medicinais que são uma importante fonte para obtenção de fármacos (CARVALHO et al., 2014).

Alguns estudos indicam e a atividade antimicrobiana de extratos de plantas da flora pertencentes ao Nordeste brasileiro, assim, pode-se citar a *Bauhinia ungulata* (SILVA, 2014), *Eucalyptus globulus*, *Justicia pectoralis* (FURTADO et al., 2015), *Cybopogon citratus* (EWANSIHA et al., 2012), *Aloe vera* (ABAKAR; BAKHIET; ABADI, 2017), *Guazuma ulmifolia*, *Hymenaea*

courbaril, (FERNANDES; SANTOS; PIMENTA, 2005), *Myracrodruron urundeuva Allemão* (FERNANDO et al., 2014), *Bauhinia cheilantha* (PEREIRA et al., 2014), *Maytenus rigida* (SANTOS et al., 2011), *Pithecellobium cochliacarpum* (SOARES et al., 2010; LIMA et al., 2014), *Plumbago scandens* (THARMARAJ; ANTONYSAMY, 2015), *Ximenia americana* (ALI, SAEED, KHALID, 2016).

Além disso, a literatura registra vários estudos das propriedades antimicrobianas de óleos essenciais de plantas que podem ser definidos como produto do metabolismo secundário, extraído de uma matéria-prima vegetal por destilação a vapor ou hidrodestilação, sendo uma mistura volátil de diversos hidrocarbonetos com diferentes formas moleculares e mecanismos de ação (NAEEM et al. 2018). Nikolić e colaboradores (2014) avaliaram a composição química, antimicrobiana e propriedades citotóxicas do óleo essencial de cinco plantas da família Lamiaceae e obtendo valores de CIM promissores com o óleo de *Satureja montana* para *P. aeruginosa* ($23,33 \pm 5,77 \mu\text{g.mL}^{-1}$), *Streptococcus mutans* ($60,00 \pm 0,00 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e *Streptococcus sanguis* ($23,00 \pm 7,64 \mu\text{g.mL}^{-1}$). No óleo citado foram identificados como componentes o timol (44,6%) e o p-cimeno (13,4%) os quais proporcionaram a este óleo ação promissora contra os microrganismos testados (NIKOLIĆ et al., 2014).

Outra pesquisa foi descrita a composição e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Epilobium parviflorum* Scherb, contra cinco microrganismos (*S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*) usando o método de microdiluição. O óleo essencial de *E. parviflorum* apresentou como componentes predominante o ácido plamílico (30,7%), o ácido linoléico (12,5%) e o α-ácido linolênico (10,8%). O óleo essencial inibiu o crescimento de todas as bactérias testadas, apresentando CIM em torno de $10 - 40 \mu\text{g.mL}^{-1}$, e para leveduras foi de 5 mg.mL^{-1} (BAJERA et al., 2017).

Conforme descrito, óleos essenciais são compostos por vários constituintes químicos com propriedade antibacteriana que dependem principalmente da quantidade e tipos de metabólitos secundários produzidos. Esses compostos são secretados por meio de uma série de interações moleculares sob condições específicas de estresse abiótico/ biótico (SWAMY; AKHTAR; SINNIAH, 2016). Cada composto possui a capacidade de exibir um

mecanismo de ação diferente contra microrganismos (SAAD; MULLER; LOBSTEIN, 2013; NAZZARO et al., 2013).

A literatura descreve vários mecanismos de ação de óleos essenciais e de sua composição que estão indicados na figura 1. Esses compostos possuem a capacidade de desorganizar a arquitetura da célula, levando à quebra da integridade da membrana, aumentando a permeabilidade e interrompendo algumas atividades celulares. Assim, a degradação da parede celular e a ruptura de sua membrana pode interferir em vários processos vitais devido a destruição de proteínas, à coagulação ou extravasamento de produtos citoplasmáticos, a interrupção das bombas de prótons e a depleção de adenosina trifosfato (ATP). Nem todos os mecanismos podem ocorrer em alvos específicos, podendo também ser ativado como consequência de outros mecanismos (SWAMY; AKHTAR; SINNIAH, 2016; ALENCAR FILHO et al., 2017).

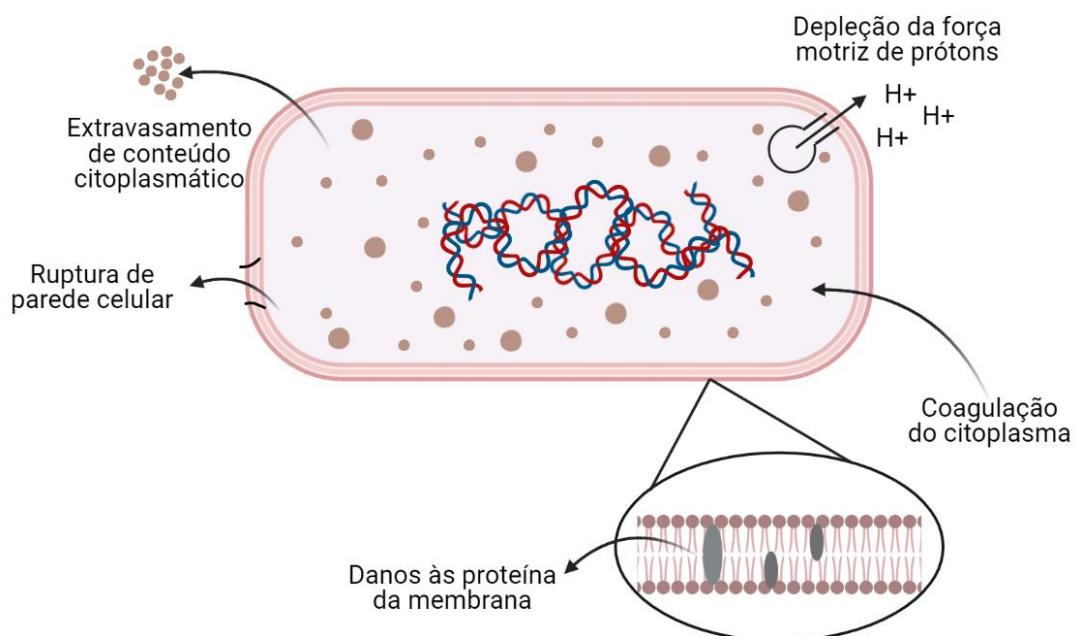


Figura 1. Locais e mecanismos de ação de óleos essenciais: degradação da parede celular, danos as proteínas de membrana, extravasamento de conteúdo celular, coagulação do citoplasma e depleção da força motriz de prótons. Fonte: Adaptação de Burt (2007).

Uma alternativa para o uso de plantas medicinais no combate a microrganismos é a combinação terapêutica sinérgica. De acordo com Chandra

e Rakholiya (2011), o tratamento combinado de produtos naturais de plantas medicinais com antibióticos pode aumentar o espectro antimicrobiano, evitando o aparecimento de resistência mutante e diminuindo a toxicidade. O sinergismo entre óleos essenciais e antibióticos disponíveis vem se mostrando como uma alternativa promissora, uma vez que seu efeito aumenta a atividade antibacteriana frente a microrganismos sensíveis ou resistentes. Contudo, a potencialização do efeito combinado desses compostos é utilizada como estratégia na terapêutica de infecções, permitindo o uso de drogas antibacterianas quando esta, isoladamente, não se mostra eficaz sobre cepas bacterianas (LANGEVELD, et al., 2014).

Schinus terebinthifolia

A família Anacardiaceae é composta por cerca de 75 gêneros e mais de 700 espécies, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais do mundo (MADIKIZELA et al., 2013). No Brasil, ocorrem cerca de 15 gêneros e 70 espécies (FEDEL-MIYASATO et al., 2014). Os membros desta família não são apenas conhecidos por seu apelo hortícola, mas são também usados para fins medicinais (MADIKIZELA et al., 2013). Vários compostos químicos com atividades farmacêuticas já foram amplamente associados a membros dessa família, tais como fenóis e taninos (DEGÁSPARI et al., 2005).

S. terebinthifolia, é popularmente conhecida como "aoeira-vermelha", "pimenta rosa", "aoeira-pimenteira", "aoeira-mansa", "pimenta brasileira" ou "Christmas-berry" (FEDEL-MIYASATO et al., 2014). É uma árvore perene, nativa do Brasil, sendo largamente distribuída por todo território brasileiro, indo desde o Alagoas até o Rio Grande do Sul. A aoeira também é introduzida em diferentes partes do mundo, como a América do Sul e Central, Europa Mediterrânea, África e Estados Unidos (FEDEL-MIYASATO et al., 2014)

A aoeira é uma árvore de médio porte, atingindo a altura de 5 a 10 metros. Suas folhas são verde-escuras, compostas, oblongas a elípticas e com nervura proeminente na parte de cima do limbo. Os frutos (Figura 2) são do tipo drupa e têm coloração verde no início e depois se tornam vermelhos. A casca é

vermelha, seca e envolve a única semente, de coloração marrom-escura, com cerca de 0,3 milímetros de diâmetro (DEGÁSPARI; WASZCZNSKYJ; PRADO, 2005).

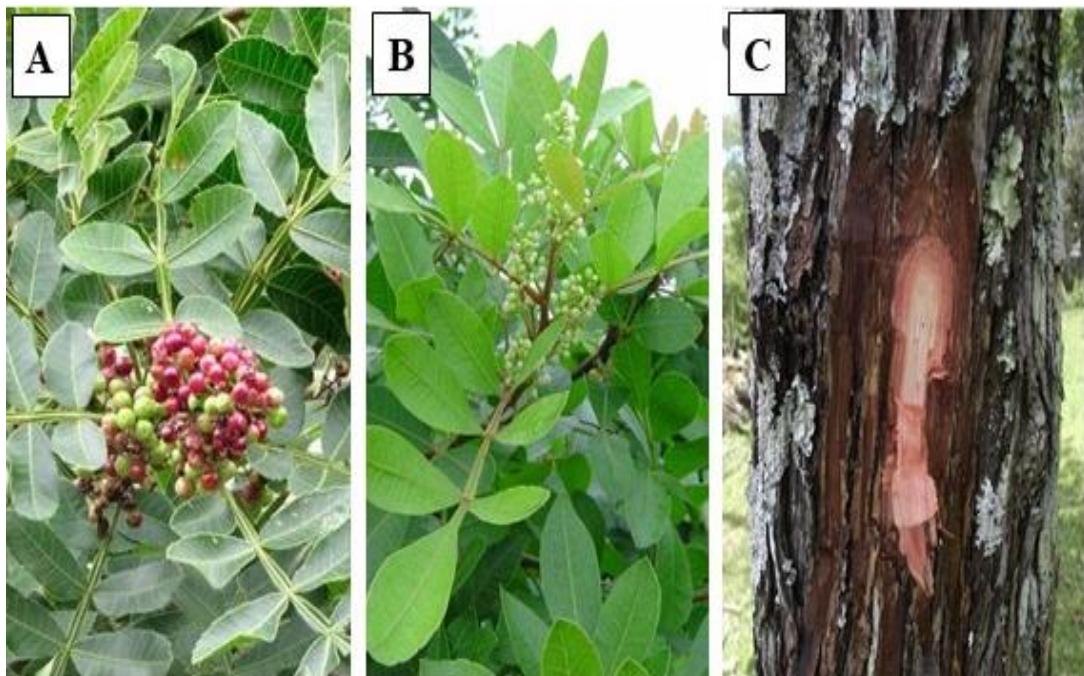


Figura 2. *Schinus terebinthifolia*: A: ramo de frutos; B: ramos de flores e C: tronco da árvore de um indivíduo. Fonte: Reflora (2020)

S. terebinthifolia tem sido objeto frequente de pesquisas sob o ponto de vista químico, principalmente após essa planta ter sido listada na RENISUS (LIMA et al., 2009; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Vários compostos químicos já foram identificados tais como: fenóis (ULIANA et al., 2016), flavonoides (GLÓRIA et al., 2017), terpenos e pentagaloilglicose - precursor de estruturas complexas de taninos. Além disso, a análise química da casca de *S. terebinthifolia* confirmaram a existência de antraquinonas, xantonas e esteroides livres (LIMA et al., 2009).

Além da aplicabilidade na culinária de *S. terebinthifolia*, várias partes da aroeira como folhas, cascas, sementes, caules e frutos são utilizadas para fins terapêuticos (FEDEL-MIYASATO et al., 2014). A análise na medicina tradicional de *S. terebinthifolia* levaram autores a estudar a comprovação *in vitro* da utilização dessa espécie para inibir o crescimento de microrganismos, entre eles os fungos e bactérias (TORRES; LIMA; UEDA, 2016).

Segundo a literatura já foram citadas as seguintes propriedades da aroeira: antioxidante e cardiovascular (GLÓRIA et al., 2017), antimicrobiana (TORRES; LIMA; UEDA, 2016; GOMES et al., 2013), anti-inflamatória e antimicobacteriana (BERNARDES et al., 2014), antiaderente para formação de biofilme oral (BARBIERI et al., 2014), imunomoduladoras e quimiopreventivas (FEDEL-MIYASATO et al., 2014), antitumoral (MATSUO et al., 2011), antisséptica, balsâmica e hemostática (LIMA et al., 2009), antialérgica (CAVALHER-MACHADO et al., 2008), adstringente, antidiarreica e febrífuga (CERUKS et al., 2007).

As atividades biológicas *in vitro* e *in vivo*, que foram relatadas para os extratos de *S. terebinthifolia*, inclui ação antifúngica principalmente na inibição do crescimento de fungos do gênero *Candida spp* (TORRES; LIMA; UEDA, 2016; MOURA-COSTA et al., 2012); e também ação antibacteriana com significativa ação contra *S. aureus*, *E. coli*, *Bacillus cereus* e *P. aeruginosa* (ULIANA et al., 2016; GOMES et al., 2013)

Psidium guajava

O gênero *Psidium* pertence à família Myrtaceae, sendo composta por mais de 70 gêneros e 2.800 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, principalmente na América, Austrália e Peru (DIAZ-DECERIO et al., 2016; AMORIM et al., 2017). O gênero *Psidium* apresenta cerca de 120-150 espécies, dentre as quais destacam-se *P. guajava* L. (goiaba), *P. catleyanum* Sabine (araçá-doce, aracá-de-praia ou aracá-de-coroa) e *P. guineense* Swartz ou *P. araca* Raddali (araçá-verdadeiro ou aracá-azedo) (FENG et al., 2015).

Psidium guajava conhecida popularmente como goiabeira (Figura 3), apresenta forma de árvore ou arbusto pequeno, medindo entre 3 a 5 m de altura, com ramos grandes e folhas oblongas ou ovaladas, de 5 a 15 cm de comprimento, com veias pinadas proeminentes e possuem em sua estrutura canais oleríferos, de onde é extraído o seu óleo essencial (SANTOS, 2017).

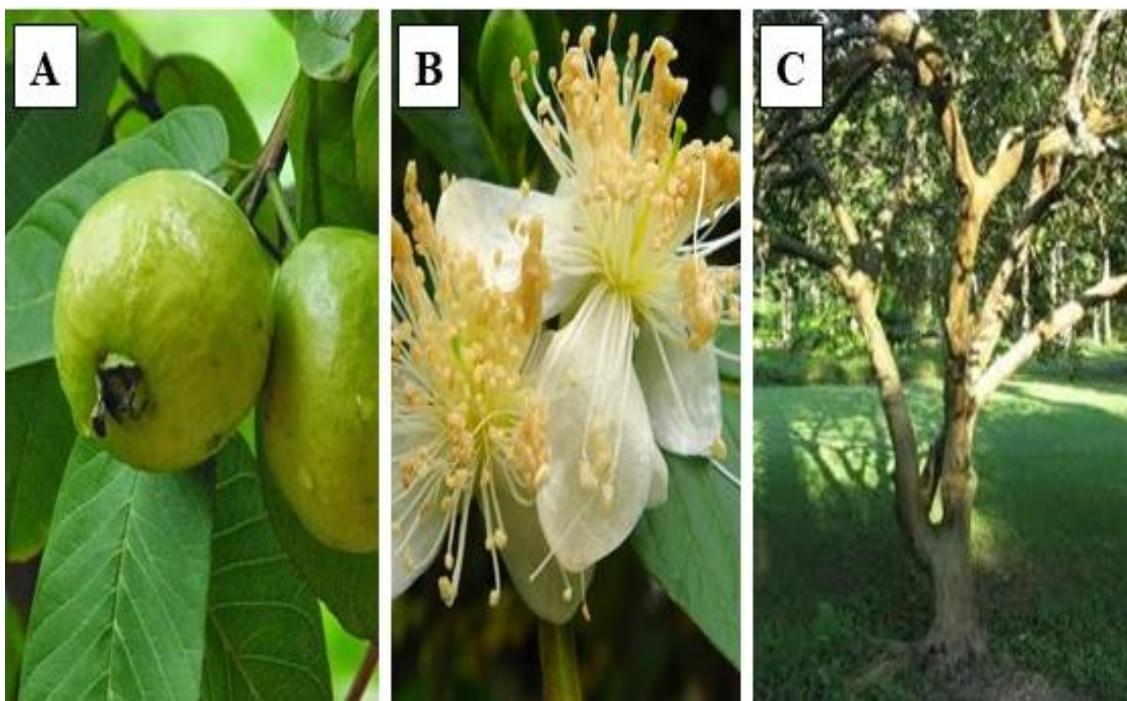


Figura 3. *Psidium guajava* representada por A: ramo de frutos; B: ramo de flor e C: individuo de goiaba Fonte: Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil e Lista da Flora do Brasil 2020.

No Brasil, a goiabeira é cultivada em escala comercial em quase todas as regiões, com destaque para os Estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Bahia, Pernambuco, Paraíba, Goiás, Rio Grande do Sul e Paraná, sendo o país o terceiro maior produtor mundial desta fruta (CARAMÊS et al., 2017; TAVARES et al., 2018). Nestas regiões, são encontradas, aproximadamente 3.024 espécies conhecidas, distribuídas e cultivadas principalmente em países de clima tropical e subtropical, pela sua capacidade de dispersão e rápida adaptação aos diferentes ambientes.

Na literatura, alguns autores relatam que a goiabeira é nativa do Brasil, de onde foi levada para todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, em razão de sua fácil adaptação às distintas condições edafoclimáticas, bem como da facilidade de dispersão por meio de sementes (BORAH et al., 2019). O uso do chá das folhas de goiabeira é popularmente conhecida contra cólica e diarreias, inflamação gastrointestinais, hipertensão, diabetes, tosse, doenças pulmonares, antitérmico, bronquite, laxante, sangramento nas gengivas, cólera,

reduzir vômitos, atividade antimicrobiana, atividade anti-inflamatória, no tratamento de feridas oculares, anticancerígenas e hepatoprotetora, efeitos comprovados com inúmeros estudos a esse respeito (DIAZ-DE-CERIO et al., 2017; JIAO et al., 2017; BORAH et al., 2019).

Estudos revelam que os óleos essenciais extraídos das folhas de goiabeira exibem atividades, dentre elas ação antimicrobiana contra vários microrganismos, como *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton rubrum*, e *Sporotrix schenckii* e contra algumas bactérias como *Staphylococcus aureus* (NASCIMENTO et al., 2000; BORAH et al., 2019). Também possuem atividade antioxidante, pela presença de vitaminas, carotenoides polifenóis e, principalmente, de ácido ascórbico (SANTOS et al., 2017; BORAH et al., 2019).

Nas folhas da goiabeira, também foram encontrados ácidos voláteis, (E)-ácido cinâmico e (Z)-3-ácido hexenoico e ácidos graxos (BORAH et al., 2019). No óleo essencial, foram encontrados vários compostos como apineno, p-9-mentenol, trans-cariofileno, β -bisaboleno, α -humuleno, α -santaleno, dlimoneno, óxido de cariofileno, eugenol, mirceno, aromadendreno, β -selineno e 1,8- cineol (SILVA, 2015; ARAIN et al., 2017; BORAH et al., 2019), alguns estudos comprovaram a eficácia do 1,8-cineol como potente antimicrobiano e antifúngico. Assim, no óleo essencial das folhas de *Psidium guajava* existe um potencial antifúngico, antimicrobiano a ser estudado.

Hymenaea courbaril

Os representantes do gênero *Hymenaea* pertencem à família das Fabaceae - Leguminosae, subfamília Caesalpinoideae, conhecidas popularmente como “jatobás”, são árvores que apresentam troncos retos de forma cilíndrica. Apresentam um súber liso e de coloração cinza. Os frutos possuem formato de vagem unicarpelar, com sabor adocicado, polpa amarelada e farináceo. Quanto a parte aérea da planta, suas folhas são compostas, bifolioladas, com filotaxia alterna com estípulas e pecíolo livre do

lado interno. As flores são diclamídeas, pentâmeras, hermafroditas com pétalas de coloração branca (Figura 4) (SOUZA; SILVA; DANTAS, 2017).

São consideradas como uma das plantas medicinais brasileiras de maior destaque seja pelo uso da casca, da entrecasca, das folhas ou do fruto, que são utilizados na forma de chá, infusão, decocção, lambedor e xarope como indicação terapêutica da gripe, bêquico, anemia e depurativo (SILVA, 2015).

O jatobá apresenta uma grande importância medicinal, em suas diferentes partes, em especial a folha, devido apresentar substâncias químicas, como terpenóides, que apresentam efeito tóxico e serve como repelente para lagartas; mata fungos e repele as saúvas, onde se merece mais estudos sobre tais propriedades (SILVA, 2015)

As plantas do gênero *Hymenaea* se encontram distribuídas pela América Central, América do Sul, oeste das Índias e uma espécie de ocorrência no leste da África (LEE; LANGENHEIM, 1975). No Brasil, a *Hymenaea courbaril* L. possui uma distribuição ampla, ocorrendo desde a floresta amazônica até a floresta estacional semidecidual no sudeste do país, sob a forma de diversas variedades, sendo *H. courbaril* var. *altissima*, *H. courbaril* var. *courbaril*, *H. courbaril* var. *longifolia*, *H. courbaril* var. *stilbocarpa*, *H. courbaril* var. *subsessilis*, *H. courbaril* var. *villosa* (LEE; LANGENHEIM, 1975; CASTELLEN, 2006).

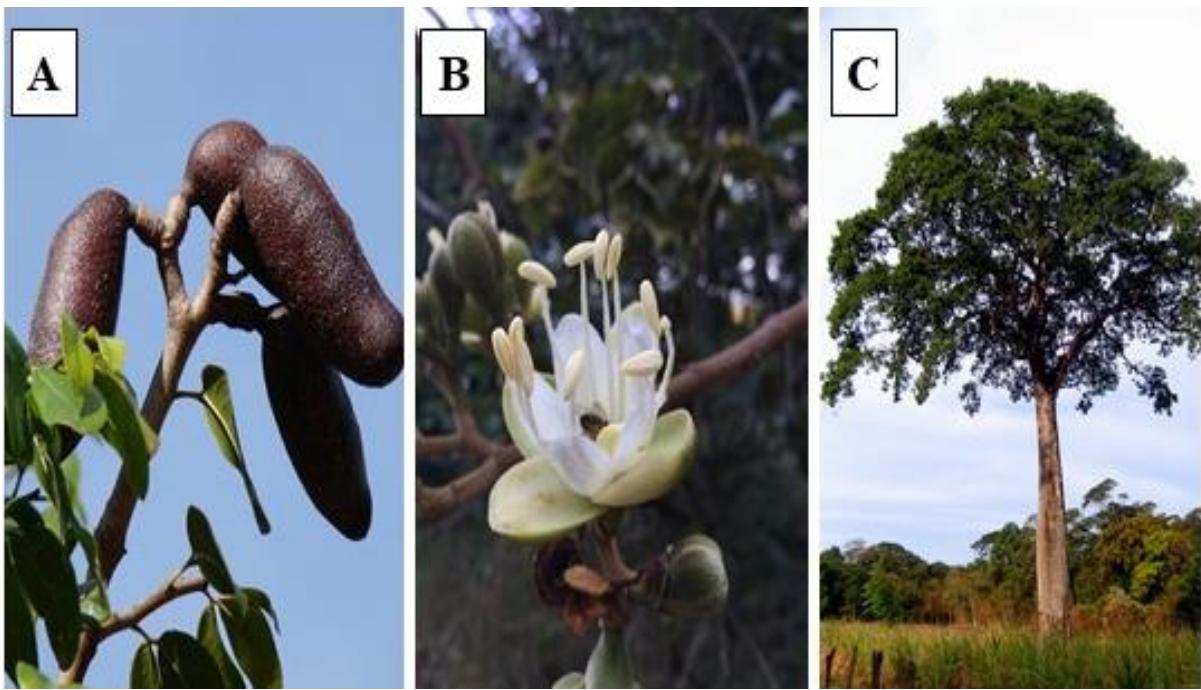


Figura 4. *Hymenaea courbaril* representada por A: ramo de flores e botões florais; B: ramo de frutos e C: indivíduo de jatobá. Fonte: Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil e Lista da Flora do Brasil 2020.

Dentre as diversas espécies do gênero *Hymenaea* pode ser destacada *Hymenaea courbaril* L., cujo nome popular jatobá é originalmente brasileira. *H. courbaril* L. pode ser encontrada em quase todos os estados. Bontempo (2000) identificou no súber dessa espécie, eficácia no tratamento de hemoptises, hematúria (emissão de urina com sangue), diarreia, disenteria, e cólicas ventrais. Adicionalmente, o autor constatou ainda que o vinho de jatobá, produzido a partir do caule, apresenta atividade fortificante para os músculos e ossos. Martins e colaboradores (2010) verificaram que o extrato etanólico bruto do ritidoma e a farinha do fruto de *H. courbaril* possuem atividade antimicrobiana.

O gênero *Hymenaea* é elencado como uma fonte abundante de compostos fenólicos (MIRANDA; CASTRO; SILVÉRIO, 2014). Dentre os compostos fenólicos encontrados nas diversas partes da planta podem ser destacados os flavonoides, amplamente distribuídos nas folhas, sementes, cascas e flores das plantas. Esses flavonoides podem ser divididos em várias classes tais como, flavonóis (quercetina), flavonas (rutina), flavanóis (catequina), flavanonas (naringenina), isoflavonas (genisteína) e antocianinas (cianidina) (FIGUEIREDO, 2014; COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

Assim, conforme a penúltima conjectura apresentada, produtos obtidos com diferentes partes de *H. courbaril* L. podem vir a revelar novas substâncias antimicrobianas que apresentam grande magnitude em saúde pública. Com a aplicação de antibióticos eficientes 16 para o tratamento das infecções ocorreu uma considerável redução das taxas de morbidade e mortalidade, permitindo grandes progressos na medicina (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

OJETIVO

Geral

Avaliar a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Schinus terebinthifolium*, *Psidium guajava* e *Hymenaea courbaril* frente a bactérias patogênicas.

Especifico

- Determinar a concentração inibitória mínima das cepas de bactérias *Escherichia coli* KPC+, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*;
- Concentração inibitória mínima de biofilme de cepas de bactérias *Escherichia coli* KPC+, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*;
- Avaliar a atividade hemolítica dos óleos essenciais de *Schinus terebinthifolium*, *Psidium guajava* e *Hymenaea courbaril*

METODOLOGIA

Extração de óleos essenciais

Schinus terebinthifolius: Frutos maduros ou próximos à maturação foram coletados em área de restinga na comunidade de Caraívas, Bahia (-16°80'05"S e 39°14'49"S). Os frutos foram higienizados em água corrente e pesados 0,50 kg para hidrodestilação em equipamento do tipo clevenger com capacidade para 3 L de água. A temperatura do vapor foi controlada a 90°C e tempo de destilação de 3 h.

Psidium guajava: Folhas foram coletadas de exemplares espontâneos em área de mata regenerada no município de Ilhéus, Bahia (-14°48'07.4"S e -39°09'01.4"W). As folhas foram higienizados em água corrente. Foram pesados 0,50kg de matéria prima para hidrodestilação em equipamento do tipo Clevenger com capacidade para 3 L de água. A temperatura do vapor foi controlada a 95°C e tempo de destilação de 3h.

Hymenea courbaril: 100 gramas de resina seca foram coletados diretamente da casca de um exemplar da espécie no Arboreto do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC/CEPLAC), município de Ilhéus – BA (-14°78'55" S e -

39°22'29" W). A resina cristalizada foi submetida à hidrodestilação por 4 h, com temperatura de vapor controlada a 90° C.

Analise microbiológicas

Foram utilizadas cepas Gram-Negativas (*Escherichia coli* KPC+ e *Escherichia coli*) e Gram-Positivas (*Staphylococcus aureus*) cultivadas em cultura pelo laboratório de Microbiologia S-Inova Biotech da Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande-MS.

Determinação da Concentração Inibitoria Mínima (CIM)

O método de microdiluição em caldo de acordo M7-A6 do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (CLSI, 2012) em microplaca de 96 poços foi utilizado para determinação do CIM. Brevemente, as amostras foram preparadas e diluídas a uma concentração duas vezes superior à concentração final desejada. Em seguida 50 µL de cada diluição das amostras serão adicionados nos poços da microplaca em triplicata e mantidos a temperatura ambiente até a adição da suspensão bacteriana. Em seguida, 50 µL de suspensão bacteriana ajustada (1×10^6 UFC.mL⁻¹) serão aplicadas em cada poço da microplaca contendo as amostras. A execução do esquema geral para determinação do CIM dos óleos essenciais contra *Escherichia coli* (KPC+), *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* consistiu no esquema de divisão das placas de 96 poços da seguinte forma: controle negativo: 100 µL de meio de cultura Muller Hinton; controle positivo: 50 µL de meio de cultura e 50 µL de suspensão bacteriana; controle DMSO: 48 µL de meio de cultura, 2 µL de DMSO e 50 µL da suspensão bacteriana; poço teste: 48 µL de meio de cultura, 2 µL do óleo essencial puro, seguindo em uma diluição seriada da mistura do óleo essencial com DMSO (1:1) e 50 µL de suspensão bacteriana. As microplacas foram incubadas a 37° C sob agitação constante e a leitura da densidade óptica (O.D. 600 nm) será realizada a cada 30 min no leitor de microplacas BioTek. A leitura da concentração foi dada em proporção de v.v

tendo como proporção da amostra pura de OE de 1:50. Todos os gráficos dos resultados foram elaborados no GraphPad (Prisma)

Concentração Inibitória Mínima de Biofilme (CIMB)

A formação de biofilmes foi obtida utilizando os meios líquidos ricos em nutrientes Luria-Bertani (BD Difco) e Todd Hewitt (BD Difco) e o meio mínimo BM2 [fosfato de potássio 62 mM, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 7 mM, MgSO_4 2 mM, FeSO_4 10 μM e glicose 0,5%]. Culturas bacterianas crescidas durante 18 h em meio Luria-Bertani serão diluídas (1:100, v:v) nos respectivos meios. O crescimento de células planctônicas foram avaliados por meio da absorbância a 600 nm. Os meios foram removidos, e os poços da microplaca foram lavados duas vezes com água deionizada. Células aderentes foram coradas com cristal violeta a 0,01% por 20 min. Os poços da microplaca foram lavados duas vezes com água deionizada, secadas ao ar e o cristal violeta aderido a células, foi solubilizado com 110 μL de etanol a 70%. A formação de biofilme foi obtida por meio da absorbância a 595 nm. Todas as leituras de absorbância foram realizadas usando o leitor de microplacas (Bio-Tek Instruments, Inc., United States). Para cada experimento foram realizados oito repetições técnicas e três biológicas. Após estabelecer as melhores condições de crescimento, as amostras foram avaliados pela habilidade em inibir o crescimento de células planctônicas e biofilmes. Esses 13 ensaios foram realizados como descrito acima, entretanto, difere dos ensaios de susceptibilidade das bactérias crescidas na presença do tratamento. O método de microdiluição foi usado para determinar a CIM e a concentração inibitória mínima que previne 50 ou 100% da formação de biofilme (CIMB). Todos os gráficos dos resultados foram elaborados no GraphPad (Prisma)

Atividade hemolítica

O ensaio para determinar a atividade hemolítica das enzimas foi realizado de acordo com o protocolo de Silva e colaboradores (Silva *et al.*, 2012). As células

serão separadas do plasma por sedimentação e preparada a 1% (v/v) da suspensão de eritrócitos de sangue humano (lavado três vezes com tampão fosfato 0,01 M, pH 7,4). As frações foram diluídas seriadamente e ressuspensas em 50 µL do mesmo tampão. As enzimas serão adicionadas a tubos de polietileno com 50 µL da solução de hemácias. Após 60 min de incubação à temperatura ambiente, os tubos serão centrifugados a 3000 rpm por 2 min. Porções de 100 µL de cada sobrenadante serão transferidas para uma placa 96 poços e realizada a leitura em 405 nm em um leitor de microplacas. As amostras de referência serão empregadas utilizando 1% (v:v) da suspensão de eritrócitos incubada com 0,1 % (v:v) de Triton X-100 como controle positivo e 1 % (v:v) da suspensão de eritrócito com o tampão do ensaio como controle negativo.

RESULTADO E DISCUSSÃO

O rendimento do OE de *S. terebinthifolia* (frutos), *P. guajava* (folhas) e *H. courbaril* (resina) foi calculado em função do volume do óleo extraído (mL) dividido pela massa do material utilizado (g) que estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1. Rendimento da extração de *Schinus terebinthifolia*, *Psidium guajava* e *Hymenaea courbaril*.

Espécie	Material Vegetal	Massa (Kg)	Rendimento
<i>S. terebinthifolius</i>	Frutos	0,50	0,70%
<i>P. guajava</i>	Folhas	0,50	0,34%
<i>H. courbaril</i>	Resina	0,10	0,70%

O teor de OE na planta pode estar associado a diversos fatores como temperatura, luminosidade, sazonalidade, estádio de desenvolvimento, horário da coleta e nutrição da planta. A interação da planta com outras plantas, com microrganismos e insetos também são outros fatores que podem influenciar na quantidade e na composição química dos OE (MORAIS, 2009).

A análise de CIM e CIMB são determinados para avaliar a eficácia antibacteriana dos OE. Todos os ensaios foram feitos com DMSO como controle e obteve como resultado em média de 60% de atividade. O óleo essencial de *S. terebinthifolius* obteve uma concentração inibitória mínima (CIM) promissora na amostra pura e na diluição em DMSO na proporção de 1:100 contra a bactéria *Escherichia coli* (KPC+) como pode ser observado na figura 5-A.

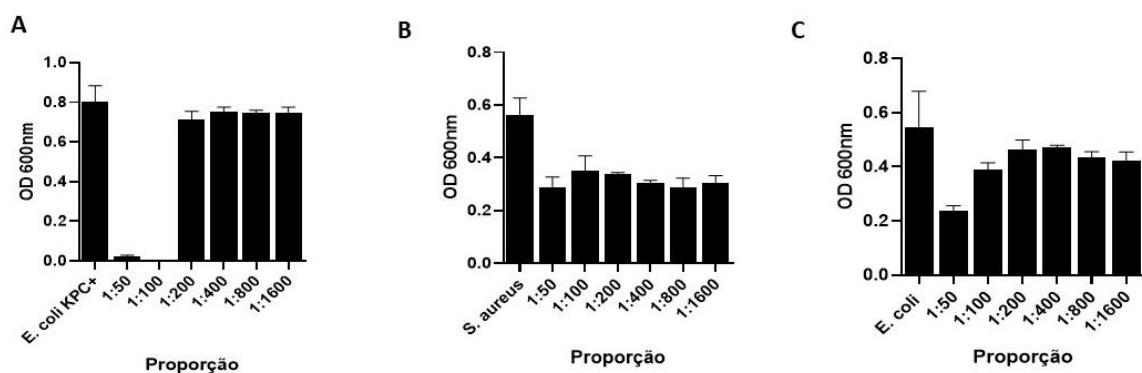


Figura 5. Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial de *S. terebinthifolia* frente ao crescimento bacteriano de (A) *E. coli* KPC+; (B) *S. aureus* e (C) e *E. coli*.

A amostra contendo óleo essencial de *P. guajava* não obteve CIM em nenhuma proporção frente a *E. coli* (KPC+) (Figura 6-A), enquanto que para *S. aureus* foi observado um CIM nas diluições em DMSO nas proporções de 1:200, 1:400 e 1:800, já na amostra pura o OE apresentou uma atividade promissora (Figura 6-B). Para *E. coli* também não foi observado CIM mas as proporções de 1:100 e 1:200 apresentaram atividade (Figura 6-C).

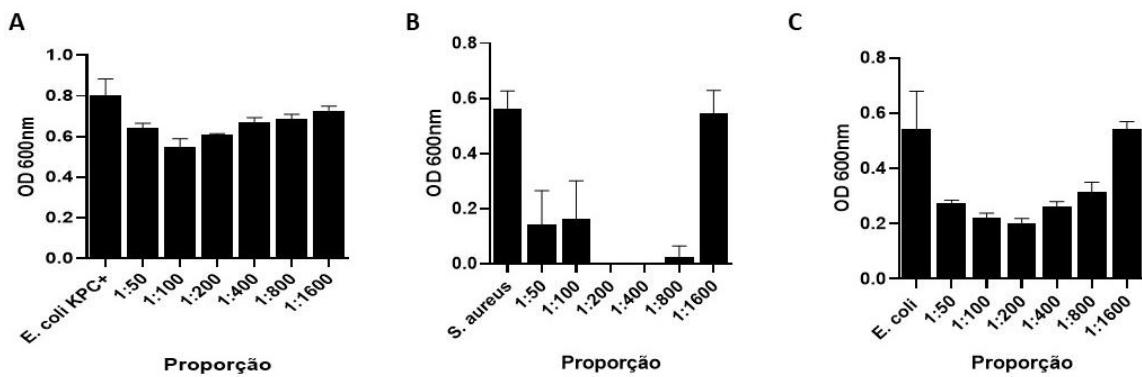


Figura 6. Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial de *P. guajava* frente ao crescimento bacteriano de (A) *E. coli* KPC+; (B) *S. aureus* e (C) *E. coli*.

Na amostra do OE de *H. courbaril* (Figura 7) foi possível observar CIM nas proporções de 1:200, 1:400 e 1:800 frente a cepa de *S. aureus* entretanto na proporção de 1:1600 tambem foi observado atividade de inibição (Figura 7-B).

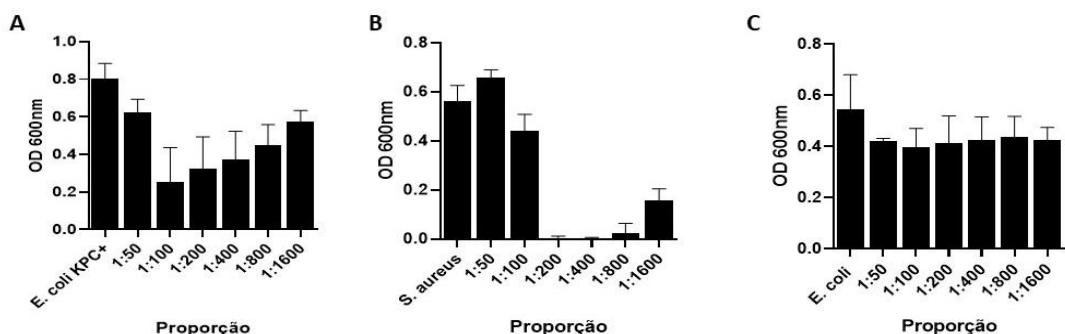


Figura 7. Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial de *H. courbaril* frente ao crescimento bacteriano de (A) *E. coli* KPC+; (B) *S. aureus* e (C) *E. coli*.

A maior sensibilidade das bactérias Gram-positivas condiz com resultados obtidos nos estudos com OEs em geral que demonstram que bactérias Gram-negativas são mais resistentes aos OEs do que as Gram-positivas (TROMBETTA et al., 2005), o que auxilia e corrobora com os

resultados obtidos neste trabalho, no qual os OEs *P. guajava* e *H. courbaril* inibiram o crescimento de *S. aureus* na proporção de 1:200, 1:400 e 1:800. E isto está relacionado as diferentes estruturas das paredes celulares das bactérias, aproximadamente de 90-95% da parede celular das Gram-positivas consiste em peptidoglicano e das Gram-negativas possuem uma membrana externa composta por uma dupla de lipopolissacarídeos (LPS) (NAZZARO et al. 2013). Essa camada densa de LPS, nas bactérias Gram-negativas seria mais rígida a passagem de pequenas moléculas antimicrobiana do que a camada espessa, porém menos densa, de peptidoglicano das Gram positivas (RAI et al.,2017)

O OE de *S. terebinthifolia* tem demonstrado efeito de inibição de crescimento *in vitro* de bactérias dos grupos *L. monocytogenes* e *E. coli*, bactérias de grande importância (DOURADO et al., 2012). Este efeito de inibição das bactérias foi verificado também no trabalho de DANNENBERG e colaboradores (2017), em que obteve redução significativa no crescimento de *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* e *S. Typhimurium* o que corrobora com os resultados obtidos deste estudo no qual foi possível observar que mesmo inibiu o crescimento de *E. coli* KPC+ na proporção de 1:100. Esta inibição pode estar relacionada à concentração do OE, onde maiores concentrações podem promover a ação antimicrobiana por apresentar os componentes do OE mais concentrados como foi apresentado no estudo de Rai e colaboradores (2017) no qual *P. aeruginosa* e *S. dysenteriae* (bactérias Gram-negativas) foram inibidas com concentrações (CIM) significativamente maiores aqueles determinadas para Gram-positivas.

Os óleos essenciais provenientes de plantas medicinais possuem uma variada composição química, que podem ser responsáveis por diferentes atividades e resultados antimicrobianos (XIANG et al., 2017). A presença de hidrocarbonetos monoterpenos e sesquiterpenos encontrados nos OEs de *S. terebinthifolia*, *P. guajava* e *H. courbaril* já descritos na literatura justificam o potencial antibacteriano destes óleos, além do mais o composto β -cariofileno presente em *P. guajava* e *H. courbaril* está relacionado à capacidade de tornar a membrana celular permeável e desintegrar a membrana externa de bactérias

Gram-negativas (ZHANG; YE; ZHANG; PAN; SUN; CAO, 2017). Para *S. terebinthifolia* os compostos β -mirceno, β -cubebeno e Limoneno é descrito na literatura como importantes componentes para a atividade antimicrobiana do OE (ULIANA et al., 2016; BURT, 2004) ou ainda ao possível efeito sinérgico entre estes componentes ou outros minoritários (NGUEFACK et al., 2012; COSTA et al., 2017).

Microrganismos que se encontram em uma matriz de biofilme são naturalmente mais resistentes aos antibacterianos do que células livres (SCHILLACI et al., 2013). Segundo o estudo de Kifer e colaboradores (2016) os quais testavam compostos para a inibição da formação de biofilmes, obtiveram resultados onde biofilmes de *S. aureus* foram resistentes a mupirocina em todas as concentrações testadas e também para compostos monoterpenos houve inibição do biofilme, dentre eles o melhor efeito foi o 1,8-cineol.

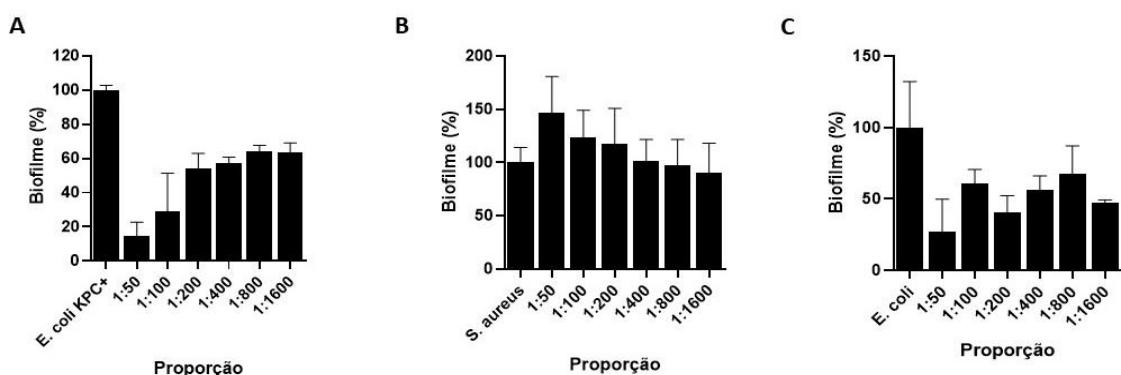
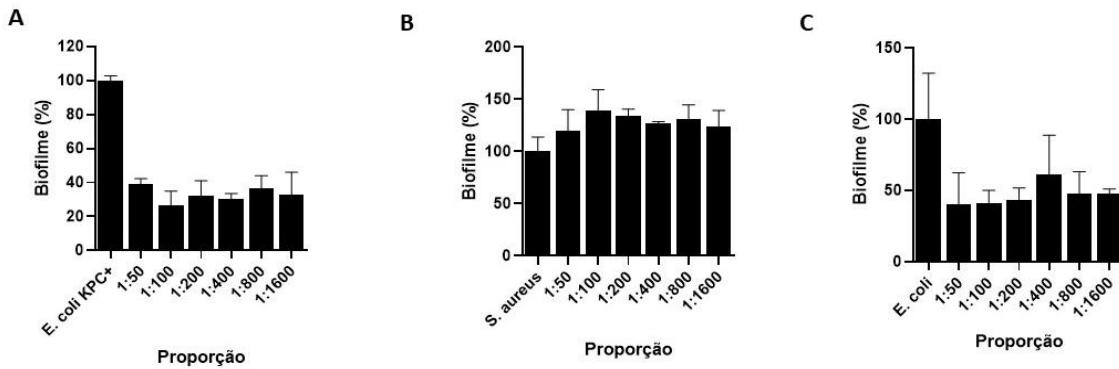


Figura 8. Concentração Inibitória Mínima de biofilme do óleo essencial de *S. terebinthifolia* frente ao crescimento bacteriano de (A) *E. coli* KPC+; (B) *S. aureus* e (C) *E. coli*.

Este composto, 1,8-cineol, pode ser encontrado no OE de *S. terebinthifolia* e *P. guajava* o que corrobora com o resultado obtido deste estudo que indica a inibição de aproximadamente 80% de crescimento de biofilme de *E. coli* KPC+ na proporção de 1:100 que é a amostra pura do OE de *S. terebinthifolia* (Figura 8-A) e aproximadamente 50% de inibição de biofilme de *E. coli* KPC+ e *E. coli* (Figura 9-A e C) na proporção de 1:50 do OE de *P.*

guajava. O DMSO utilizado como controle para este ensaio foi igual ou inferior a 30% de inibição de formação de biofilme para todas as amostras.



Em uma pesquisa que avalia o potencial antibacteriano de *Hymenaea courbaril*, foi obtido a inibição de cepas de *E. coli*, *Salmonella* spp e *S. aureus*, onde a média de concentração *H. courbaril* foram: *E. coli* (104.2 μ g/mL), *Salmonella* spp. (145.8 μ g/mL) e *S. aureus* (104.2 μ g/mL) (SÁ et al., 2011). Neste estudo, para as amostras de OE de *Hymenaea courbaril* não foi observa CIMB mas o ensaio para *E. coli* KPC+ (Figura 10-A) apresentou atividade acima de 60% de inibição de biofilme para todas as proporções.

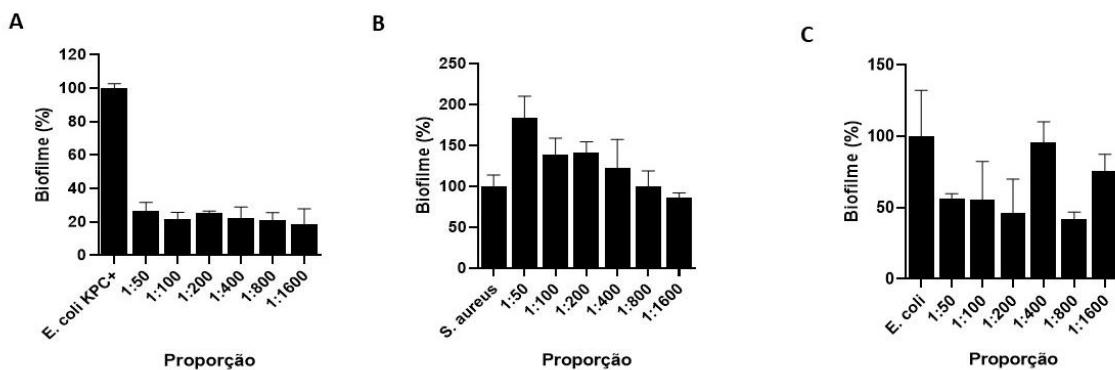


Figura 10. Concentração Inibitória Mínima de biofilme do óleo essencial de *H. courbaril* frente ao crescimento bacteriano de (A) *E. coli* KPC+; (B) *S. aureus* e (C) e *E. coli*

Diversos estudos demonstram que OE de diferentes origens podem variar em seus mecanismos de ação em crescimento planctônicos ou sésseis, em vista que a composição dos óleos é muito variável. Esta variabilidade nas atividades dos óleos pode também ser devido à diferença nos níveis de seus componentes majoritários e minoritários, e a um efeito sinérgico entre todos os componentes. Os OE são substancialmente mais potentes, em comparação com constituintes químicos individuais, indicando uma possível sinergia entre os diferentes constituintes químicos dos OE (YANG et al., 2015; MERGHNI et al., 2016).

A tabela 2 apresenta um compilado dos resultados de CIM e CIBM obtidos nesta pesquisa, no qual apresenta da esquerda para direita as espécies do OE extraído; os microrganismos testados e o valor em proporção de CIM e CIBM.

Tabela 2. Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração inibitória mínima de biofilme (CIMB) dos óleos essências de *S. terebinthifolia*, *P. guajava* e *H. courbaril* frente *E. coli* (KPC+), *S. aureus* e *E. coli*.

OE	Microrganismo	CIM	CIMB
<i>S terebinthifolia</i>	<i>E. coli</i> KPC+	1:100	1:50
	<i>S. aureus</i>	-	-
	<i>E. coli</i>	-	-
<i>P. guajava</i>	<i>E. coli</i> KPC+	-	-
	<i>S. aureus</i>	1:200	-
	<i>E. coli</i>	-	-
<i>H. courbaril</i>	<i>E. coli</i> KPC+	-	1:50
	<i>S. aureus</i>	1:200	-
	<i>E. coli</i>	-	-

Ademais, foram testados o crescimento de biofilme no antibiótico Ciprofloxacina na qual foi diluída da mesma forma que os óleos essenciais em DMSO (1:1) e não apresentou CMIB em nenhuma proporção (figura 11), mas houve a inibição de 70% do crescimento de *E. coli* KPC+ e *E. coli* quando testada na concentração pura (Figura 11-A e C). Para o controle DMSO foi observado a inibição de igual e inferior a 40% para todas as amostras.

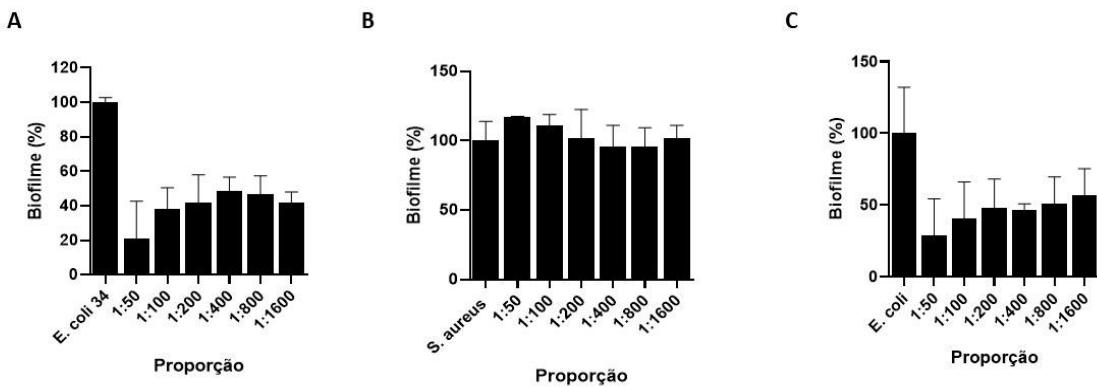


Figura 11. Concentração inibitória mínima de biofilme de ciprofloxacina frente a formação de biofilme de ciprofloxacina (A) *E. coli* KPC+, (B) *S. aureus* e (C) *E. coli*.

Os antibióticos fluoroquinolonas, como a ciprofloxacina, apresentam um largo espectro de atividade antimicrobiana efetiva contra uma variedade de microrganismos, incluindo bactérias Gram-negativas patogênicas (BOLON, 2011), todavia atualmente a ocorrência de cepas resistentes a estes antibióticos vem sendo relatada mundialmente.

Diversos mecanismos podem ser responsáveis por esta resistência do biofilme aos antibióticos, que incluem (1) a barreira de difusão física e química formada pela matriz de exopolissacarídeos, o que dificulta a penetração antimicrobiana, (2) a existência de microambientes que antagonizam a ação antibiótica, (3) a ativação de respostas de estresse que causam alterações na fisiologia bacteriana, desencadeando um crescimento bacteriano mais lento devido à limitação de nutrientes e (4) ausência de alvos antimicrobianos (COELHO et al., 2011). Estudos indicam que uma substância com atividade antibiofilme pode ser combinado com um antibiótico convencional para controlar eficientemente a formação do biofilme, bem como perturbar o biofilme já consolidado, permitindo que a droga consiga atingir as células bacterianas que vivem em seu interior (ABRAHAM et al., 2011).

Os ensaios de atividade hemolítica são indispensáveis para se analisar os reais benefícios e riscos dos compostos presentes nos OE, e este ensaio vem sendo empregado como metodologia de triagem para diversos agentes tóxicos (COLE et al., 2014). Desta forma, é devido a estes fatores que o ensaio hemolítico se faz necessário para avaliar se além da atividade antibacteriana

os OEs de *S. terebinthifolia*, *P. guajava* e *H. courbaril* apresentam caráter tóxico para a membrana das hemácias.

Neste estudo, todos os OE apresentaram hemólise em todas as proporções com exceção do OE (Figura 13) de *S. terebinthifolia* no qual não apresentou atividade hemolítica na proporção de 1:1600 de diluição e para o controle DMSO, foi observado exatamente 30% de hemólise. Como é conhecido, os OE possuem variados componentes ativos em sua composição química que em maior concentração podem apresentar atividade. A membrana eritrocitária compreende uma dupla camada lipídica, sendo constituída por proteínas integrais e carboidratos. Por possuir uma composição lipídica elevada, a membrana do eritrócito pode interagir com compostos lipofílicos, como os óleos essenciais, tornando-a mais permeável e promovendo sua hemólise. (MAGALHÃES, 2010).

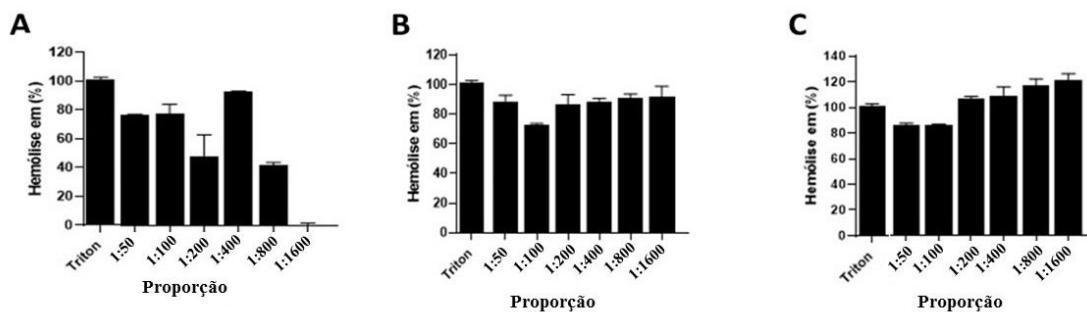


Figura 12. Percentual do ensaio hemolítico dos óleos essenciais de (A) *S. terebinthifolius*; (B) *P. guajava* e (C) *H. courbaril*.

No estudo de Silva (2015), o OE de *S. terebinthifolia* não apresentou atividade hemolítica até a concentração de 8 mg.mL^{-1} visto que as hemácias e o OE permaneceram límpidas após a centrifugação com a formação de um precipitado de células sem que tenha havido lise das mesmas e nas amostras mais concentradas foram observadas a hemólise das células. Isto então comprova que em amostras onde a concentração é maior há ação hemolítica, pois, os compostos dos OE estão mais concentrados entrando então, de acordo com os resultados obtidos neste estudo no OE avaliados.

Outro estudo de Tariku e colaboradores (2011) observaram que os OE de *Artemisia abyssinica* e *Satureja punctata* spp. *Punctata* causaram danos nos

eritrócitos com aproximadamente 50% de lise nas concentrações de 0,35 e 1,52 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$ respectivamente, posteriormente Tariku et al. (2011) estudou a ação hemolítica dos OE de *Artemisia absinthium* e *Echinops kebericho* obtendo o valor de LC₅₀ de 1,52 e 2,62 $\mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$ indicando cautela para a utilização de OE.

Como dito, o ensaio hemolítico é um dos testes experimentais mais utilizados para a avaliação de toxicidade *in vitro*, sendo capaz de verificar a citotoxicidade de diferentes xenobióticos, estimando os danos causados nos eritrócitos. Dessa forma, com os resultados obtidos neste estudo é possível deduzir que os OE de *S. terebinthifolia*, *P. guajava* e *H. courbaril* apresentam toxicidade aos eritrócitos nas concentrações testadas, com exceção da concentração 1/32 de diluição do OE de *S. terebinthifolia*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As amostras de OE extraídos de *S. terebinthifolia* apresenta atividade antibacteriana e antibiofilme para *E. coli* KPC+ enquanto que *P. guajava* e *H. courbaril* apresenta potencial inibitório para as cepas de *S. aureus*.

Entender a relação entre os compostos bioativos encontrados na composição química dos OE apresenta perspectivas para a obtenção de novos antimicrobianos. Considerando os resultados obtidos sugere-se novas pesquisas sobre a aplicabilidade dos OE em novas terapias e/ou desenvolvimento de protocolos terapêuticos individualmente utilizados e associados com antibióticos, assim como a aplicação da combinação de OE com antibióticos convencionais para o tratamento e profilaxia de doenças infecciosas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ABAKAR, H. O. M.; BAKHIET, S. E. A.; ABADI, R. S. M. Antimicrobial activity and minimum inhibitory concentration of Aloe vera sap and leaves using different extracts. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.**, Sudão, v. 6, n. 3, p. 298-303, mar./abr. 2017.

ABRAHAM, S. V. P. I. et al. Antiquorum Sensing and Antibiofilm Potential of *Capparis spinosa*. **Archives of Medical Research**, v. 42, p. 658 – 668, 2011.

ACOSTA, A. C. Fatores de virulência de *Staphylococcus aureus*. **Medicina Veterinária (UFRPE)**., Pernambuco, v.11, n.4, p.252-269, set./jan. 2017.

ALENCAR FILHO J. M. T. et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves of *Croton heliotropiifolius* in different seasons of the year. **Revista Brasileira de Farmacologia.**, Bahia, v. 27, n. 4, p. 440-444, fev./mar. 2017.

ALI, Z. M. M., SAEED, A. E. M.; KHALID. H. S. Antimicrobial activity and phytochemical screening of *Ximenia americana* L bark and leaves. **American Journal of Research Communication.**, Sudão, v. 4, n. 1, p. 122-129, dez. 2016.

AMORIM, A. G. N. et al. HPLC-DAD, ESI - MS/MS and NMR of lycopene isolated from *P. guajava* L. and its biotechnological applications. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 2017.

ANTUNES, M. N., Constituintes químicos de *Cochlospermum regium* (Martius e Schrank) Pilger(Bixaceae) / Marlene NevesAntunes. – 2009. 89 f.: Il. Dissertação (mestrado) Universidade Estadual de Goiás, Centro Universitário de Anápolis, 2009.

AOKI, W; UEDA, M. Characterization of Antimicrobial Peptides toward the

Development of Novel Antibiotics. **Pharmaceuticals**. v. 6, n. 8, p.1055-1081, ago. 2013

APARECIDA, E. et al. Chemical composition of the essential oil of *Psidium guajava* leaves and its toxicity against *Sclerotinia sclerotiorum* Composição química do óleo essencial de folhas de *Psidium guajava* e sua toxicidade contra *Sclerotinia sclerotiorum*. p. 865–874, 2018.

ARAIN, A. et al. Spectroscopic and chromatographic evaluation of solvent extracted guava seed oil. **International Journal of Food Properties**, v. 20, p. 556–563, 2017.

BAJERA, T. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil, distilled aromatic water and herbal infusion from *Epilobium parviflorum* Schreb. **Industrial Crops and Products**., Pardubice, v. 100, n. 1, p. 95–105, ago./fev. 2017.

BAPTISTA, Maria Galvão de Figueiredo Mendes. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. Lisboa: Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde, 2013. Originalmente apresentada como dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde, 2013.

BERNARDES, N.R. et al. Nitric oxide production, inhibitory, antioxidant and antimycobacterial activities of the fruits extract and flavonoid content of *Schinus terebinthifolius*. **Brazilian J. Pharmacogn.** v. 24, p. 644–650, 2014.

BONTEMPO, M.. Medicina Natural. **Nova Cultura**, p. 584, 2000.

BORAH, A. et al. Chemical Composition of Leaf Essential Oil of *Psidium guajava* L. from North East India. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 22, p. 248-253, 2019.

BUCHY, P. et al. Impact of vaccines on antimicrobial resistance. **International Journal of Infectious Diseases.**, Cingapura, v. 90, n. 1, p. 188 – 196, out. 2020.

CARAMÊS, E. T. S. et al. Quality control of cashew apple and guava nectar by near infrared spectroscopy. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 56, p. 41-46, 2017.

CARVALHO, R. O. DE et al. Agroindustry for drying pink pepper (*Schinus terebinthifolius*). p. 177–180, 2015.

CASTELLEN, M. S.. Avaliação do estado de conservação de populações naturais de jatobá (*Hymenaea courbaril L.*) por meio de análises de estrutura genética e autocorrelação espacial. 2005. 104 f. Tese (Doutorado) - Pós-graduação em Ecologia e Agroecossistemas, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

CAVALHER-MACHADO, S. C. et al. The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. **Int. Immunopharmacol.** v. 8, p. 1552–1560, 2008.

CERUKS, M. et al. Constituíntes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius raddi* (anacardiaceae). **Quim. Nova.** v. 30, p. 597–599, 2007

CHANDRA, S.; RAKHOLIYA, K. Combination therapy: Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. **Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances.**, Índia, v. 1, n. 13, p. 520-529, jan. 2011.

COELHO, S. M. O. et al. Profile of virulence factors of *S. aureus* isolated from subclinical bovine mastitis in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 7, p. 3305–3310, 2011.

COSTA, A. L. P.; SILVA JUNIOR, A. C. S.. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (unifap)**, v. 7, n. 2, p.45- 57, 23 ago. 2017.

COSTA, E. C. C. et al. Essential oil repellent action of plants of the genus *Zanthoxylum* against *Bemisia tabaci* biotype B (Homoptera: aleyrodidae). **Scientia Horticulturae**, v. 226, p. 327-332, dez. 2017.

DA COSTA, A. L. P.; SILVA JUNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45, 2017.

DANNENBERG, G. S. et al. Essential oil from pink pepper as an antimicrobial component in cellulose acetate film: Potential for application as active packaging for sliced cheese. **LWTFood Science and Technology**, v.81, p. 314-318, 2017.

DEGÁSPARI, C.H., WASZCZNSKYJ, N., PRADO, M. Atividade Antimicrobiana de *Schinus terebenthifolius* Addi. **Ciências agrotécnicas**. v. 29, p. 617–622, 2005.

DÍAZ-DE-CERIO, E. et al. Determination of guava (*Psidium guajava* L.) leaf phenolic compounds using HPLC-DAD-QTOF-MS. **Journal of Functional Foods**, v. 22, p. 376 - 388, 2016

DOURADO, M. T. Óleos essenciais e oleoresina da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi): propriedades químicas e biológicas. Tese (Doutorado) – 120f. Programa de PósGraduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Pelotas, 2012.

EBANI, V. V. et al. Antimicrobial Activity of Five Essential Oils against Tract Infections. [s.d.].

ELSHAFIE, H. S.; CAMELE, I. An overview of the biological effects of some mediterranean essential oils on human health. **BioMed Research International**, v. 2017, 2017.

EWANSIHA, J. U. et al. Antimicrobial Activity of Cymhopogon Citratus (Lemon Grass) and It's Phytochemical Properties. **Frontiers in Science**., Nigeria, v. 2, n. 6, p. 214-220, dez. 2012.

FARIA, Raimundo Nonato. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico da folha de *Phanera flexuosa* (Moric.) L. P. Queiroz (Caesalpinoideae) e da inibição de fatores de virulência de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos. **Bahia: Programa Multicêntrico de PósGraduação em Ciências Fisiológicas – SBFIS**, 2012. Originalmente apresentada como dissertação Mestrado em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal da Bahia, 2012.

FEDEL-MIYASATO, L. E. S. et al. Antigenotoxic and antimutagenic effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi in *Allium cepa* and Swiss mice: Acomparative study. **Genet. Mol. Res.** v. 13, p. 3411–3425, 2014.

FENG, X. et al. Cytotoxic and antioxidant constituents from the leaves of *Psidium guajava*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 25, p. 2193–2198, 2015.

FERNANDES, T. T.; SANTOS, A. T. F.; PIMENTA, F. C. Atividade antimicrobiana das plantas – *Plathymenia reticulata*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. **Revista de Patologia Tropical**., Goiânia, v. 34, n. 2, p. 113-122, mai./ago. 2005.

FERNANDO, G. F. et al. Chemical composition and evaluation of modulatory of the antibiotic activity from extract and essential oil of *Myracrodruon urundeuva*. **Pharmaceutical Biology**., Crato, v. 52, n. 5, p. 560-565, abr./nov. 2014.

FIGUEIREDO, Patricia Aparecida. Avaliação do Potencial Antioxidante, Citotóxico e Fotoprotetor de Extratos de *Hymenaea courbaril* L. e *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne. 2014. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Biociências, Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Assis, 2014.

FLORES, G. et al. Chemical composition and antioxidant activity of seven cultivars of guava (*Psidium guajava*) fruits. **FOOD CHEMISTRY**, 2014.

FURTADO, J. M. et al., Atividade Antimicrobiana do Extrato Aquoso de *Eucalyptus globulus*, *Justicia pectoralis* e *Cymbopogon citratus* Frente a Bactérias de Interesse. **UNOPAR Científica. Ciência Biológica e da Saúde.**, Sobral, v. 17, n. 4, p. 233-7, abr./set. 2015.

GLÓRIA, L. de L. et al. Phenolic compounds present *Schinus terebinthifolius* Raddi influence the lowering of blood pressure in rats. *Molecules*. v. 22, p. 1–11, 2017.

GOMES, F. S. et al. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. *J. Appl. Microbiol.* v. 114, p. 672–679, 2013.

HANZELMANN, D. et al. Toll-like receptor 2 activation depends on lipopeptide shedding by bacterial surfactants. **Nature Communications.**, Germany, v. 7, n. 12304, p. 1-11, dez./jul. 2016.

JIAO, Y. et al. Consumption of guava may have beneficial effects in type 2 diabetes: A bioactive perspective. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 543 - 552, 2017.

KIM, M. K. et al. Mechanisms driving the antibacterial and antibiofilm properties of Hp1404 and its analogue peptides against multidrug-resistant *Pseudomonas*

aeruginosa. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–16, 2018.

KÖHLER CD, DOBRINDT U. What defines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*? **International Journal of Medical Microbiology** 301:642-647.2011

LAGHA, R. et al. of Medicinal Plant Essential Oils Against *Escherichia coli* Isolated from UTI Patients. p. 1–12, 2019.

LAKHUNDI, S.; ZHANG, K. Methicillinresistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. **Clinical Microbiology Reviews**, Canadá, v. 31, n. 4, p. 1-103, set. 2018.

LANGEVELD, W. T. et al. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. **Critical Reviews in Microbiology**, Holanda, v. 40, n. 1, p. 76–94, jul./fev. 2014.

LEE, K. Y.; OTTO, M. Quorum-sensing regulation in *Staphylococci*-an overview. **Frontiers Microbiology**, USA, v. 6, n. 1, p. 1174, set./out. 2015.

LEE, A. S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Nature Reviews Disease Primers**, Australia, v. 31, n. 4, p. 18033, mai. 2018.

LEE, Y. T. & LANGENHEIN, J. H.. Systematicsofthe genus *Hymenaea* L. (Leguminosae, Caesalpinoideae, Detarieae). **Berkeley: University of California Press**, p. 105, 1975.

LEITE, João Paulo Viana. **Informações sobre plantas medicinais e fitoterápicos no contexto da farmacoterapia**. Fitoterapia, v.1, p. 344, 2008.

LIMA, L. B. et al. Acute and subacute toxicity of *Schinus terebinthifolius* bark extract. **J. Ethnopharmacol.** v. 126, p. 468–473, 2009.

LIMA, M. F. P. Et al. *Staphylococcus aureus* e as Infecções Hospitalares –

Revisão De Literatura. **Revista UNINGÁ Review.**, Minas Gerais, v.21, n.1, p.32-39, jan./mar. 2015.

LOPES, G.A.D. et al. Plantas medicinais: indicação popular de uso no tratamento de hipertensão arterial sistêmica (HAS). **Revista Ciência em Extensão.**, São Paulo, v.6, n.2, p.143-155, jul. 2010.

LUSTOSA, Ana Karina Marques Fortes. Avaliação do potencial farmacológico da manteiga de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e de forma farmacêutica de uso tópico com ela desenvolvida. **Teresina: Centro de Ciências Saúde**, 2012. Originalmente apresentada como dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, 2012.

MADIKIZELA, B. et al .Isolation and characterization of antimicrobial constituents of *Searsia chirindensis* L. (Anacardiaceae) leaf extracts. **J. Ethnopharmacol.** v. 150, p. 609–613, 2013.

MAGALHÃES, H. I. F. et al. *In vitro* and *in vivo* antitumor effects of (4methoxyphenyl)(3,4,5-trimethoxyphenyl) methanone. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, 24 aug, 2010.

MARTINS, C. H. G., et al. Determinação *in vitro* da Atividade Antibacteriana dos Extratos Brutos da Casca e Polpa Farinácea de *Hymenaea courbaril* L. **Investigação**, 43, p. 10-37, 2010.

MATSUO, A. L. a-Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v. 411, p. 449–454, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica*. Brasil. Ministério da Saúde.

Secretaria de Atenção à Saúde. **Departamento de Atenção Básica**. Brasília, 2017.

MIRANDA, A. R.; CASTRO, C. F. S.; SILVÉRIO, M. D. O.. Avaliação da atividade antioxidante e inibição da tirosinase do extrato das folhas do jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 31, p.693-699, 2014.

MELO, R. S. et al. Chemical composition and antimicrobial effectiveness of *ocimum gratissimum* L. essential oil against multidrug-resistant isolates of *staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Molecules**, v. 24, n. 21, 2019.

MERGHNI, A et al. Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. **Current Research In Translational Medicine**, 2016.

MORADALI, M.F.; GHODS, S.; REHM, B. H. A.. *Pseudomonas aeruginosa* Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, USA, v. 7, n.1 p. 3910-3389, fev. 2017.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**. v. 27, p.4051-4058, 2009.

MOURA-COSTA, G.F. et al. Antimicrobial activity of plants used as medicinals on an indigenous reserve in Rio das Cobras, Parana, Brazil. **J. Ethnopharmacol.** v. 143, p. 631–638, 2012.

NAEEM, A. Essential Oils: Brief Background and Uses. **Annals of Short Reports.,Parkistan**, v. 1, n. 1, p. 1-6, jun./mai. 2018.

NASCIMENTO, G. G. F. et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, p. 247-256, 2000.

NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; MARTINO, L. DE. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. **Pharmaceuticals**, p. 1451–1474, 2013.

NEVES P. R. et al., *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.**, Rio de Janeiro, v. 47, n. 4, p. 409-420, ago. 2011.

NIKOLIĆ, M. et al. Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxic properties of five Lamiaceae essential oils. **Industrial Crops and Products.**, Serbia, v. 61, n. 1, p. 225–232, mai. 2014.

NGUEFACK, J. et al. Synergistic action between fractions of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. **Food Control**, v. 23, n. 2, p. 377–383, fev. 2012.

OHADIAN M. S.; POURMAND, M. R.; AMINHARATI, F. Biofilm formation and antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from burn patients, Iran. **Journal of Infection in Developing Countries.**, Tehran, v. 8, n. 12, p.1511– 1517, ago. 2014

PEREIRA, C. et al. Chemical composition and antioxidant activity of jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart .) flour. v. 2014, n. 006405, p. 597–603, 2014.

SALEM, M. Z. M. et al. AC SC. **Microbial Pathogenesis**, 2018.

QUINN, P. J. et al. *Microbiology Veterinary Clinical*, Londres. p. 648, 2005

RAI, M. et al. Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles : Emerging trends and future perspectives. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 519, n. 1–2, p. 67–78, 2017.

RICE, L. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial

pathogens: no ESKAPE. **The Journal of Infectious Diseases.**, Clevelândia, v. 197, n. 1 p. 1079- 1081, jan./mar. 2008.

ROBINS-BROWNE RM, et al. Are Escherichia coli Pathotypes Still Relevant in the era of Whole-Genome Sequencing? **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 6:141.2016.

ROCHA, S.L.S. Detecção de fatores de virulência de amostras de Escherichia coli isoladas de granjas avicolas do RS através do MultiplexPCR. Dissertação de Mestrado. 68 f. Universidade do Rio Grande do Sul, 2008

ROSA, R. L.; BARCELOS, A. L. V.; BAMPI, G. Investigação do uso de plantas medicinais no tratamento de indivíduos com diabetes mellitus na cidade de Herval D' Oeste - SC. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais.**, Santa Catarina, vol.14, n.2, p. 306-310, out./nov. 2012

ROSENTHAL, V. D. et al. International nosocomial infection control consortium report, data summary of 50 countries for 2010-2015: device-associated module. **American Journal of Infection Control.**, Argentina, v. 44, n. 1, p. 1495– 1504, dez. 2016

RUPPÉ, E.; WOERTHER, P-L; BARBIER, F. Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. **Annals of Intensive Care**. France, v. 5, n. 1, p. 61, ago. 2015.

SAAD, N, Y.; MULLER, C. D.; LOBSTEIN, A. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their componentes. **Flavour and Fragrance Journal**. France, v. 28, n. 5, p. 269– 279, jan./mai. 2013.

SANTOS, R. C., Atividade do extrato rico em licopeno da goiaba vermelha (*Psidium guajava* L.) em células de adenocarcinoma mamário in vitro. 2017. 115p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Piauí – PI, 2017.

SANTOS, V.L et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais.**, Parnaíba, v.13, n.1, p.68-72, set./mai. 2011.

SAVIOLLI, J.Y. Pesquisa e caracterização de *Escherichia coli* patogênica (E. coli produtora de toxina Shiga – STEC; E. coli aviária patogênica - APEC) de fragatas (*Fregata magnificens*) da Costa do Estado de São Paulo. 84 f. Dissertação mestrado. Universidade de São Paulo.2010.

SÁ, M. C. A. et al. Antimicrobial activity of Caatinga biome ethanolic plant extracts against gram negative and positive bacteria. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 18, n. 2/3, p. 62-66, 2011

SILVA, E. A. J. et al. Antibacterial and antiproliferative activities of the fresh leaf essential oil of *Psidium guajava* L . (Myrtaceae). v. 79, n. 4, p. 697–702, 2019.

SILVA, E. A. J. Extração de óleo essencial das folhas de *Pisidium guajava*, análise da influência da secagem do material vegetal sobre o teor e a composição química do óleo essencial e avaliação antifúngica sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. 2014. 104p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Instituto Federal Goiano Campus Rio Verde – GO. 2015

SILVA, H. C. et al., A novel lectin from *Bauhinia ungulata* L. seeds with fungistatic and antiproliferative activities. **Process Biochemistry**. Fortaleza, v. 49, n. 1, p. 203– 209, fev. 2014.

SILVA, Larissa Rodrigues Apolinário. Avaliação *in vitro* do potencial antimicrobiano e toxidez do óleo essencial da *Schinus terebinthifolius* Raddi. Trabalho de conclusão de curso. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Campina Grande- PB, 2015.

SOARES, J. R. P. F. et al. Ação antibacteriana e antiaderente de

Pithecellobium Cochliocarpum (gomez) macbr sobre micro-organismos orais. **Odontologia Clínica Científica.**, Recife, v. 9, n. 4, p. 331-335, dez. 2010.

SOUSA, D. M. et al. Infecção por *Staphylococcus aureus* Resistente em Unidades de Terapia Intensiva: Revisão Integrativa. **Revista de Enfermagem.** Teresina, v.10, n. 4, p. 1315-1323, abr. 2016.

SOUZA, A. O.; SILVA, M. J.; DANTAS, M. M.. The genera *Apuleia*, *Dimorphandra*, *Tachigali* (Caesalpinoideae), *Bauhinia*, *Schnella* (Cercidoideae), *Copaifera*, *Hymenaea* e *Peltogyne* (Detarioideae) (Leguminosae) in the Serra Dourada State Park, Goiás, Brazil. **Rodriguésia**, v. 68, n. 4, p. 1273-1286, 2017.

SPEZIALE, P. et al. Protein-based biofilm matrices in *Staphylococci*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.**, Italy, v. 4, n. 1, p. 171, dez. 2014.

STAPELS, D. A. et al. *Staphylococcus aureus* secretes a unique class of neutrophil serine protease inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences.**, Germany, v. 111, n. 1, p. 13187–13192, set. 2014.0.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINNIAH, U. R. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action : An Updated Review. v. 2016, 2016.

TADEG, H.; MOHAMMED, E. A.; GEBRE-MARIAN, T. Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in treatment of skin disorders. **Journal of Ethnopharmacology.**, Ethiopia, v. 100, n. 1, p. 168-175, ago. 2005.

TARIQ, S. et al. Microbial Pathogenesis A comprehensive review of the antibacterial , antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug- resistant microbial pathogens. **Microbial Pthogenesis**, v. 134, n. March, p. 103580, 2019.

TARIKU, Y et al. *In vitro* Evaluation of Antileishmanial Activity and Toxicity of Essential Oils of *Artemisia absinthium* and *Echinops kebericho*. **Chemistry & Biodiversity**, v.8, n.4, p. 614-23. Apr. 2011.

TAVARES, L. R. et al. Avaliação físico-química e microbiológica de goiaba (*Psidium guajava*) revestida com cobertura comestível à base de O-carboximetilquitosana e óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*). **MultiScience Journal**, v. 1, p. 20-26, 2018.

THARMARAJ, R. J. J. M.; ANTONYSAMY, J. M. Screening of Bactericidal Activity of Selected *Plumbago* Species Against Bacterial Pathogens. **Journal of Microbiology & Experimentation**, Índia, v. 2, n. 6, p.194-200, jul/dez. 2015.

TROMBETTA, Domenico et al. Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [S.L.], v. 49, n. 6, p. 2474-2478, jun. 2005.

TORRES, K., LIMA, S., UEDA, S. Activity of the aqueous extract of *Schinus terebinthifolius* Raddi on strains of the *Candida* genus. **Rev. Bras. Ginecol. e Obstet.** v. 38, p. 593–599, 2016.

ULIANA, M. P. et al. Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 235–240, 2016

VANHOMMERIG, E. et al. Comparison of biofilm formation between major clonal lineages of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **PLOS ONE**, United States, v. 9, n. 8, e104561, p. 1-8, abr./ago. 2014.

VILA J, et al. *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. **FEMS Microbiology Reviews** 40:437–463. 2016.

XIANG, H. et al. Chemical compositions, antioxidative, antimicrobial, antiinflammatory and antitumor activities of Curcuma aromatica Salisb. essential oils. **Industrial Crops & Products** v. 6, n.16, p.6–16, 2017

WANG, Y. T.; LEE, M. F.; PENG, C. F. Mutations in the quinolone resistance determining regions associated with ciprofloxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Southern Taiwan. **Biomarkers and Genomic Medicine**, v. 6, n. 2, p. 79-83, june 2014.

WRIGHT, G. D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. **Nature Reviews Microbiology**, Canada, v.5, n. 1, p.175-186, mar. 2007.

YANG, C.; HU, D.H.; FENG, Y. Essential oil of *Artemisia vestita* exhibits potent in vitro and in vivo antibacterial activity: Investigation of the effect of oil on biofilm formation, leakage of potassium ions and survival curve measurement. **Molecular Medicine Reports**, 2015.

ZHANG, Jing et al. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Black Pepper Essential Oil on Meat-Borne *Escherichia coli*. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 7, p. 2094-2094, 4 jan. 2017