

**UNIVERSIDADE BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS CAMPUS
FERNANDÓPOLIS**

MARIA HELENA MARTINS YAZAWA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE EXTRATOS DE PLANTAS
MEDICINAIS SOBRE *Salmonella spp.***

**IN VITRO ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF MEDICINAL PLANT EXTRACTS
AGAINST *Salmonella spp.***

Fernandópolis – SP

2024

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

MARIA HELENA MARTINS YAZAWA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE EXTRATOS DE PLANTAS
MEDICINAIS SOBRE *Salmonella spp.***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Prof. Dr. Roberto Andreani Junior
Orientador

Prof.^a Dr.^a Dora Inés Kozusny-Andreani
Coorientadora

Fernandópolis – SP
2024

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil, com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

Y37a Yazawa, Maria Helena Martins.

Atividade Antimicrobiana in vitro de extratos de plantas –
Fernandópolis SP: Universidade Brasil, 2024.

52f. il.; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. Roberto Andreani Junior.

Coorientador(a). Prof.^a Dr.^a. Dora Inés Kozusny Andreani.

1. Antimicrobianos naturais. 2. Compostos vegetais 3. Enterobactérias
I. Título.

CDD 615.321



TERMO DE APROVAÇÃO

MARIA HELENA MARTINS YAZAWA

**"ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE EXTRATOS DE PLANTAS MEDICINAIS
SOBRE SALMONELLA spp"**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais** da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Roberto Andreani Junior
(Universidade Brasil)

Prof. Dr. Acácio Aparecido Navarrete
(Universidade Brasil)

Prof. Dr. Igor Barcellos Precinoti
(Centro Universitário Católico Unisalesiano e da
Fundação Educacional de Penápolis (FUNPEPE))

Presidente da Banca - Prof. Dr. Roberto Andreani Junior
Fernandópolis/SP, 14 de agosto de 2024



Termo de Autorização

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página WWW do Respeetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES

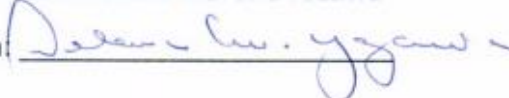
Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.


Título do Trabalho: **"ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE EXTRATOS DE PLANTAS MEDICINAIS SOBRE SALMONELLA spp"**

Autor(es):

Discente: Maria Helena Martins Yazawa

Assinatura: 

Orientador: Prof. Dr. Roberto Andreani Junior

Assinatura: 

Data: 14/08/2024

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de continuar a aprender, sempre.
Agradeço à minha família, pelo apoio e compreensão.

Agradeço aos professores que contribuíram – e contribuem – para meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço ao meu orientador e à minha coorientadora por toda a ajuda na condução da pesquisa.

RESUMO

A partir do uso na medicina popular as propriedades biológicas dos óleos essenciais, extratos e chás de plantas aromáticas e medicinais são estreitamente conhecidas. Esses compostos têm sido utilizados no controle de patógenos em humanos, animais e vegetais. A *Salmonella* é uma bactéria da família das *Enterobacteriaceae* que causa intoxicação alimentar e em casos raros, pode provocar graves infecções e até mesmo a morte. A transmissão se dá com a ingestão de alimentos com contaminação fecal, sendo a bactéria encontrada normalmente em animais. Esse trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia dos extratos hidroalcoólicos de plantas medicinais, no controle *in vitro* de *Salmonella* spp. Foram utilizadas cepas de *Salmonella* spp. isoladas a partir de amostras de ovos de galinha. Para a obtenção dos extratos de plantas, foram empregadas seis espécies (citronela, romã, alecrim, manjerição, capim limão e pitanga), sendo as folhas a matéria prima selecionada, e os extratos obtidos pelo processo de extração hidroalcoólica. A eficiência dos extratos foi avaliada em relação à concentração inibitória mínima (CIM) e à concentração bactericida mínima (CMB). Os resultados indicam que todos os extratos hidroalcoólicos testados possuem algum grau de atividade antimicrobiana contra a *Salmonella* spp, no entanto, os de capim limão e de manjerição mostraram maior eficácia e menor variabilidade, sugerindo seu potencial como alternativas naturais para controle microbiano, com propriedades promissoras para o controle de infecções por *Salmonella* spp. Esses achados fornecem uma base sólida para a exploração e desenvolvimento de novos produtos antimicrobianos a partir de plantas medicinais.

Palavras-chave: antimicrobianos naturais; compostos vegetais; enterobactérias.

ABSTRACT

From their use in folk medicine, the biological properties of essential oils, extracts and teas from aromatic and medicinal plants are closely known. These compounds have been used to control pathogens in humans, animals and plants. Salmonella is a bacterium from the Enterobacteriaceae family that causes food poisoning and in rare cases, can cause serious infections and even death. Transmission occurs through the ingestion of food with fecal contamination, with the bacteria normally found in animals. This work aimed to evaluate the effectiveness of hydroalcoholic extracts of medicinal plants in the in vitro control of Salmonella spp. We used strains of Salmonella spp. isolated from chicken egg samples. To obtain the plant extracts, six species were used (citronella, pomegranate, rosemary, basil, lemongrass and pitanga), with the leaves being the selected raw material, and the extracts obtained by the hydroalcoholic extraction process. The efficiency of the extracts was evaluated in relation to the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (CMB). The results indicate that all essential oils tested have some degree of antimicrobial activity against Salmonella spp. However, hydroalcoholic extracts of lemongrass and basil showed greater efficacy and less variability, suggesting their potential as natural alternatives for microbial control, with promising properties for controlling infections caused by Salmonella spp. These findings provide a solid basis for the exploration and development of new antimicrobial products from medicinal plants.

Keywords: natural antimicrobials; plant compounds; enterobacteria.

DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO

Esta pesquisa investigou se extratos de plantas medicinais podem ajudar a combater a *Salmonella*, uma bactéria que pode causar sérias infecções em humanos. A *Salmonella* pode ser encontrada em alimentos, como ovos, e é importante descobrir maneiras de controlá-la para evitar doenças. Foram testados extratos de seis plantas: citronela, romã, alecrim, manjeriço, capim-limão e pitanga. Os estudos evidenciaram que todos os extratos pesquisados mostraram algum grau de eficácia contra a *Salmonella*, sendo que os extratos de capim-limão e manjeriço foram os mais eficazes. Esses resultados mostram que essas plantas têm um grande potencial para serem usadas como agentes naturais no controle da bactéria. Trata-se de achados relevantes, pois podem levar ao desenvolvimento de novos produtos que ajudem a prevenir infecções de maneira segura e natural, sem o uso de antibióticos. Essas descobertas são promissoras e podem melhorar a segurança alimentar e a saúde pública no futuro.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Valores individuais da contagem microbiana para cada um dos óleos essenciais avaliados. Círculos pretos e vermelhos indicam as médias e as medianas da contagem microbiana, respectivamente.	25
Figura 2 – Contagem microbiana de <i>Salmonella spp.</i> para todos os extratos hidroalcoólicos estudados de acordo com os tempos de exposição	26
Figura 3 – Contagem microbiana de <i>Salmonella spp.</i> para todos os extratos hidroalcoólicos analisados de acordo com os tempos de exposição, excluindo o tempo zero.	28
Figura 4 – Contagem microbiana de <i>Salmonella spp.</i> para o extrato hidroalcoólico de citronela de acordo com o tempo de exposição	29
Figura 5 – Contagem microbiana de <i>Salmonella spp.</i> para o óleo de capim limão de acordo com os tempos de exposição.	31
Figura 6 – Contagem microbiana de <i>Salmonella spp.</i> para o óleo de alecrim de acordo com os tempos de exposição.	32
Figura 7 – Contagem microbiana de <i>Salmonella spp.</i> para o óleo de romã de acordo com os tempos de exposição.	33
Figura 8 – Contagem microbiana de <i>Salmonella spp.</i> para o óleo de manjerição de acordo com os tempos de exposição.	34
Figura 9 – Contagem microbiana de <i>Salmonella spp.</i> para o óleo de pitanga de acordo com os tempos de exposição.	35
Figura 10 – Variação percentual da contagem microbiana dos óleos essenciais estudados. Círculos e quadrados indicam as médias e as medianas da variação da contagem microbiana, respectivamente.	39
Figura 11 – Redução logarítmica da carga microbiana de cada um dos óleos essenciais ao longo do tempo.	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentrações inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) para cada um dos óleos avaliados no estudo.	24
Tabela 2 – Média \pm desvio padrão (Mediana) da contagem microbiana em relação aos extratos hidroalcoólicos estudados	24
Tabela 3 – Média \pm desvio padrão (Mediana) da variação percentual (%) da contagem microbiana em relação aos óleos essenciais avaliados.	37

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CMB	Concentração Mínima Bactericida
MI	Mililitro
NaCl	Cloreto de sódio
PNPMF	Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
SUS	Sistema Único de Saúde
TSB	<i>Tryptic Soy Broth</i> (caldo de soja trípico)
UFC	Unidades Formadoras de Colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVO	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 PLANTAS MEDICINAIS	16
3.2 <i>Salmonella</i>	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 CEPA BACTERIANA E PREPARO DO INÓCULO	20
4.2 AMOSTRAS VEGETAIS	20
4.2 PREPARO DOS EXTRATOS.....	21
4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
6 CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais têm sido utilizadas para melhorar a saúde desde tempos imemoriais, e o sucesso da ciência médica moderna depende, em grande parte, de compostos originalmente obtidos de produtos naturais (Kebede; Gadisa; Tufa, 2021).

O uso de extratos vegetais de conhecida atividade antimicrobiana pode adquirir significado nos tratamentos terapêuticos. Diversas espécies vegetais têm sido utilizadas pelas características antimicrobianas, através de compostos sintetizados pelo metabolismo secundário da planta (Louguercio *et al.*, 2005). De acordo com Torriani *et al.* (2006), as plantas possuem vários princípios ativos distintos, responsáveis por seus efeitos, como alcaloides, taninos e saponinas. Em relação aos óleos essenciais podem ser citados: mucilagens, glicosídeos e pectinas.

Assim, a busca por alternativas naturais para o combate a infecções tem ganhado destaque não só na medicina moderna, mas na indústria farmacêutica, cosmética e veterinária, especialmente em virtude da crescente resistência bacteriana aos antibióticos tradicionais.

Entre as bactérias de maior preocupação para a saúde pública está a *Salmonella*, um patógeno responsável por diversas doenças alimentares que afetam milhões de pessoas ao redor do mundo anualmente. Neste contexto, o estudo da ação antimicrobiana de plantas medicinais surge como uma área promissora, buscando não apenas alternativas eficazes, mas também tratamentos que causem menos efeitos adversos aos pacientes.

Vaou *et al.* (2021), explicam que a atividade antimicrobiana de um agente é atribuída principalmente a dois mecanismos: interferência química na síntese ou função de componentes vitais de bactérias e para contornar os mecanismos convencionais de resistência antibacteriana. Embora os agentes antimicrobianos sintéticos já sejam aprovados em muitos países, o uso de compostos naturais derivados de plantas medicinais continua a atrair a atenção de muitos pesquisadores.

Um dos motivos que justificam essa atenção se deve ao fato de que as plantas medicinais têm um enorme potencial para a descoberta de novos compostos bioativos que podem ser eficazes contra microrganismos resistentes. Os produtos químicos derivados de plantas medicinais podem restaurar a aplicação clínica de antibióticos mais antigos, aumentando sua potência, demonstrando eficácia em casos de resistência bacteriana (Vaou *et al.*, 2021).

Além da preocupação com a resistência bacteriana, destacam-se as doenças transmitidas por alimentos (DTA), sendo que a contaminação microbiana destes representa um importante problema de saúde pública e econômica para a sociedade (Celiktas *et al.*, 2005).

A presença de microrganismos patogênicos e suas toxinas causam sérios problemas à saúde dos consumidores, sendo que a *Salmonella* spp. se encontra entre os principais agentes envolvidos nas toxinfecções alimentares, sendo comumente isolada em alimentos de origem avícola (ou alimentos produzidos à base de ovos) e de suínos (Lustosa *et al.*, 2021).

Os alimentos são verdadeiros meios de cultura para as bactérias e se apresentam como substratos que contribuem para a proliferação de microrganismos. A falta de higiene por parte das pessoas que manipulam os alimentos também pode causar contaminação, assim como o armazenamento inadequado dos itens e de seu consumo alterado (mal cozido ou *in natura*). A contaminação com *Salmonella* é particularmente preocupante, pois pode ocorrer em diversos alimentos e resultar em surtos de doenças graves. Além disso, o uso de conservantes químicos, muitos deles com atividade carcinogênica e teratogênica, tem sido repudiado pelos consumidores (Moreira *et al.*, 2005).

Dessa forma, se faz necessário o estudo de novos agentes que possam ser utilizados como antimicrobianos e que sejam passíveis de inserção em um sistema de conservação de alimentos (Souza; Lima; Narain, 2003). Segundo Lantmann *et al.* (2022), devido à sua relevância como patógeno no âmbito da saúde pública, este microrganismo requer maior atenção dos órgãos governamentais.

2 OBJETIVO

Avaliar a eficácia dos extratos hidroalcoólicos de plantas medicinais, na inativação *in vitro* de *Salmonella* spp.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 PLANTAS MEDICINAIS

O uso de plantas medicinais remonta aos primórdios da humanidade, sendo um dos primeiros recursos terapêuticos empregados. Esse hábito representa uma das mais antigas tentativas humanas de entender e utilizar a natureza para combater doenças e aliviar o sofrimento. Plantas medicinais são espécies vegetais, cultivadas ou não, que são utilizadas com propósitos terapêuticos. Podem ser utilizadas como plantas frescas, que são aquelas coletadas no momento de uso e/ou plantas secas, quando são precedidas de secagem e estabilização, equivalendo ao composto vegetal (Brandeli, 2017).

No Brasil, a rica biodiversidade do país proporciona uma imensa variedade de plantas com potencial medicinal. Iniciativas como o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), visam integrar esses recursos no Sistema Único de Saúde (SUS), promovendo o uso seguro e racional dessas plantas para ampliar as opções terapêuticas disponíveis à população (Brasil, 2006).

Embora seja difícil estimar a totalidade da biodiversidade brasileira, o Brasil é reconhecido por ter a maior diversidade genética vegetal do mundo. Apesar desse potencial para descobrir novos fitofármacos, menos de 10% da flora nacional foi estudada com fins fitoquímicos e farmacológicos. O Ministério da Saúde registra cerca de 600 compostos vegetais para comercialização medicinal, de um total aproximado de 1.000 espécies com atividades biológicas e princípios bioativos cientificamente avaliados (Almeida, 2011).

Com o avanço da ciência, a pesquisa sobre plantas medicinais continua a evoluir, unindo conhecimentos tradicionais com tecnologias modernas para desenvolver novos tratamentos eficazes e seguros. O estudo e a valorização das plantas medicinais não só contribuem para a saúde pública, mas também promovem a sustentabilidade ambiental e o desenvolvimento econômico das comunidades que cultivam e utilizam essas plantas (Brasil, 2006).

Ademais, extratos de plantas medicinais são conhecidos por exibirem diversas atividades biológicas, incluindo a antimicrobiana, a anti-inflamatória e a antioxidante. Os compostos antimicrobianos presentes nesses extratos podem inibir o crescimento de bactérias, fungos, vírus e protozoários através de mecanismos distintos dos

antimicrobianos atualmente utilizados.

Esse diferencial pode conferir um valor clínico significativo no tratamento de cepas microbianas resistentes. Alguns desses compostos mostram atividade antibacteriana intrínseca e podem também atuar como modificadores de resistência a antibióticos. Embora alguns compostos não sejam eficazes como antibióticos isolados, quando combinados com antibióticos convencionais, podem ajudar a superar a resistência bacteriana. Além disso, os compostos quimicamente complexos das plantas medicinais tendem a ter menos efeitos colaterais em comparação com os medicamentos sintéticos, além de apresentarem menores chances de desenvolver resistência (Vaou *et al.*, 2021).

Plantas medicinais e aromáticas são amplamente utilizadas na medicina popular, uma vez que apresentam um amplo espectro de atividade e inibição comprovada contra bactérias e fungos, além de serem de grande importância na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia (Duarte *et al.*, 2004; Sartoratto; Machado; Delarmelina, 2004). Essas propriedades são reconhecidas por suas substâncias ativas, como é o caso dos terpenóides e compostos fenólicos que são produtos do metabolismo secundário e que fazem parte da constituição dos óleos essenciais (Louguercio *et al.*, 2005).

Para Dehghani e Saeidi (2023), os extratos vegetais e fitoquímicos são considerados novos agentes antimicrobianos promissores por várias razões, dentre as quais pode ser citado o fato de serem econômicos e prontamente disponíveis, além de, em geral, não apresentarem efeitos colaterais ou quando existem, são insignificantes na dosagem adequada. Eles também mostram grande diversidade estrutural e são menos propensos a produzir resistência a antibióticos do que antibióticos sintéticos. Além disso, agentes antimicrobianos de origem vegetal, ao contrário de produtos químicos sintetizados que poluem o solo e a água e se movem por cadeias alimentares ecológicas, ou seja, são ecologicamente corretos.

Lemos *et al.* (2000) e Avancini e Wiest (2008), demonstraram a atividade antimicrobiana de plantas com potencial medicinal, condimentar ou aromático sendo que no Brasil essas pesquisas vêm ganhando ênfase. O potencial de inibição de microrganismos vem revelando o poder do emprego destes elementos naturais (Pereira *et al.*, 2006; Albuquerque *et al.*, 2007). Extratos e óleos essenciais de plantas têm demonstrado ser uma excelente opção na atividade antimicrobiana, incluindo microrganismos patogênicos de origem alimentar (Pereira *et al.*, 2006; Food

Ingredients Brasil, 2010; Embrapa, 2011).

É essencial desenvolver alternativas de antibióticos o mais rápido possível devido às crescentes preocupações sobre a disseminação de superbactérias e o lento desenvolvimento de novos medicamentos para o gado e para os humanos. No entanto, descobriu-se que vários extratos de plantas e seus fitoquímicos isolados exibem forte eficácia contra organismos que causam doenças transmitidas por alimentos. Vários fitoquímicos mostraram-se promissores como agentes bactericidas ou antimicrobianos que podem aumentar os efeitos de antibióticos já disponíveis (Almuzaini, 2023).

3.2 *Salmonella*

O gênero *Salmonella* foi nomeado em 1900 por Lignières, em homenagem a Daniel Salmon, que isolou o microrganismo *Salmonella enterica* sorovar *Choleraesuis* de suínos. Inicialmente, a nomenclatura baseava-se nas condições clínicas ou no hospedeiro de onde o microrganismo era isolado. Devido à diversidade de sorovares encontrados em diferentes hospedeiros, o mesmo sorovar podia ser identificado em locais distintos. A partir de 1920, microbiologistas liderados por Fritz Kauffmann e Philip Bruce White unificaram a taxonomia, resultando no esquema de Kauffmann-White, reconhecido em 1933. Desde então, a nomenclatura passou por modificações baseadas em métodos clássicos e moleculares (Brasil, 2011).

A *Salmonella* é classificada segundo as suas características e estando presentes os antígenos somáticos (O), flagelares (H), e capsulares (Vi). O antígeno (O) se localiza na fração lipopolissacarídica (LPS), constituída de um lipídeo denominado (A), responsável pelo efeito tóxico (Franco; Landgraf, 2004).

São bactérias Gram-negativas, geralmente móveis e não fermentam a lactose (Quinn *et al.*, 2005), sendo representadas por duas espécies: *Salmonella bongori*, compreendendo 18 sorovares, e *Salmonella enterica*, a qual contém 2.460 ou mais sorovares, divididos em 6 subespécies: *S. enterica*, *S. salamae*, *S. arizonae*, *S. diarizone*, *S. houtenae* e *S. indica* (Wray; Davies, 2000; Santos *et al.*, 2002).

O habitat natural das salmonelas é dividido em três categorias com base na especificidade do hospedeiro e no padrão clínico:

- a) Altamente adaptadas ao homem: inclui *S. typhi* e *S. paratyphi* A, B e C,

- responsáveis pela febre entérica (tifoide e paratifoide);
- b) Altamente adaptadas aos animais: inclui *S. dublin* (bovinos), *S. choleraesuis* e *S. typhisuis* (suínos), *S. abortusequi* (equinos), *S. pullorum* e *S. gallinarum* (aves), que causam paratifo nos animais. Em humanos, sorovares como *S. dublin* e *S. choleraesuis* podem causar septicemia, especialmente em indivíduos jovens, idosos, com doenças crônicas ou imunocomprometidos.
 - c) Zoonóticas: inclui a maioria dos sorovares que infectam tanto humanos quanto animais, causando gastroenterite (enterocolite) ou DTA. Essas salmonelas têm distribuição mundial e são frequentemente transmitidas por alimentos de origem animal, como ovos, aves, carnes e laticínios, sendo responsáveis por altos índices de morbidade e mortalidade, tanto em países emergentes quanto desenvolvidos (Brasil, 2011).

A salmonelose é a zoonose mais difundida no mundo, envolvendo a transmissão entre praticamente todos os vertebrados e a ingestão de alimentos contaminados, tornando seu controle um desafio para a saúde pública. Um fator epidemiológico crucial nos animais é o estado de portador assintomático, que dificulta a detecção da contaminação antes ou durante a inspeção dos produtos de origem animal, resultando em uma fonte contínua de contaminação ambiental e alimentar (Brasil, 2011).

A presença da *Salmonella* por si não caracteriza a doença, pois depende do número de células presentes no alimento, assim como a virulência do sorotipo (Sigarini *et al.*, 2006).

Com a introdução do cloranfenicol, apenas em 1948, a febre tifoide tornou-se uma infecção tratável embora este tratamento tenha sido substituído por quinolonas ou cefalosporinas de terceira geração consideradas mais seguras e mais caras, embora o problema da resistência das cepas também seja frequente. A prevenção é efetiva com boas medidas de higiene pessoal, manipulação, armazenamento e de distribuição de alimentos, assim como de saneamento (Tortora; Funke; Case, 2012). Considerando a patogenicidade e os desfechos que a contaminação por *Salmonella* podem causar ao ser humano, é importante empenhar esforços para encontrar alternativas viáveis de inibir sua proliferação e contaminação.

4 MATERIAL E MÉTODOS


4.1 CEPA BACTERIANA E PREPARO DO INÓCULO

A atividade antimicrobiana dos extratos hidroalcoólicos foi avaliada sobre *Salmonella* spp. isoladas a partir de amostras de ovos de galinha. As cepas utilizadas foram semeadas em ágar MacConckey (Oxoid®), incubadas por 24 horas a 37 °C em estufa bacteriológica. Culturas de 24 horas em meio MacConckey foram transferidas para meio *Tryptic Soy Broth* (TSB, Oxoid®) a 37 °C por 24 horas quando foram utilizadas para preparação de suspensões em solução de NaCl 0,5% estéril e ajustadas ao tubo 0,5 da escala de McFarland, que corresponde aproximadamente a $6,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹. A partir desta solução foram realizadas diluições seriadas, que resultaram em uma concentração de $1,5 \times 10^6$ unidades formadoras de colônia (UFC) mL⁻¹.

4.2 AMOSTRAS VEGETAIS

As amostras de plantas utilizadas no experimento foram coletadas no Município de Fernandópolis, estado de São Paulo. Foram empregadas as seguintes espécies vegetais: citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt), romã (*Punica granatum* L.), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L), manjerição (*Ocimum basilicum* L), capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Staff) e pitanga (*Eugenia uniflora* L.). As características de cada espécie são apresentadas no Quadro 1:

Quadro 1 – Relação de espécie vegetais incluídas na análise de laboratório.

Nome científico	Nome popular	Características
<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt 	Citronela	De aparência similar ao capim-limão, suas folhas são mais largas e laminares e quando amassadas, o cheiro de eucalipto da citronela se diferencia do cítrico do capim-limão; é uma planta perene, que forma touceira e atinge mais de 1 m de altura.

<p><i>Punica granatum L.</i></p> 	<p>Romã</p>	<p>Arbusto perene com até 5 m de altura, apresenta ramos espinhosos, folhas pequenas e frutos de cores amarelo-avermelhada, amarelo-alaranjada ou vermelho-clara, esférico e com muitas sementes; se desenvolve em diferentes tipos de clima.</p>
<p><i>Rosmarinus officinalis L.</i></p> 	<p>Alecrim</p>	<p>Arbusto semiperene, que pode atingir mais de um metro de altura. Apresenta caule lenhoso e muito ramificado.</p>
<p><i>Ocimum basilicum L.</i></p> 	<p>Manjerição (ou basilicão)</p>	<p>Arbusto com até 1 m de altura, bastante ramificado e com galhos quebradiços; se desenvolve melhor em clima frio, mas se adapta bem a várias regiões brasileiras.</p>
<p><i>Cymbopogon citratus (DC) Stapf</i></p> 	<p>Capim-limão (ou, capim-cidreira, melissa, erva-cidreira, capim-santo)</p>	<p>Planta semiperene, forma touceira, atinge mais de 1 m de altura, apresenta folhas longas, lineares e recurvadas, de coloração verde-acinzentado, textura áspera e bordas cortantes; exalam perfume cítrico, principalmente quando maceradas.</p>
<p><i>Eugenia uniflora L.</i></p> 	<p>Pitanga</p>	<p>Arbusto perene, denso, muito ramificado, com altura até 8 m, apresenta folhagem persistente ou semidecídua. As folhas apresentam coloração verde-amarronzada quando jovens e verde escura quando adultas.</p>

Fonte: Moura, Dantas e Carvalho (2021)

4.2 PREPARO DOS EXTRATOS

As plantas foram submetidas ao processo de extração hidroalcoólica, sendo as

folhas lavadas com água destilada e, o material foi seco a temperatura ambiente durante 24 horas. O material vegetal foi colocado em estufa com circulação de ar forçada a 33 °C por uma semana, sendo posteriormente triturado. De cada planta utilizou-se 300 g para extração hidroalcoólica em solução 70% de etanol com água destilada. Após um mês de maceração foi obtido o extrato bruto por filtração. O extrato foi filtrado e levado a uma temperatura de 45 °C para evaporação do solvente. No final da quinta semana, o extrato bruto obtido foi colocado em estufa (40 °C) para secagem, obtendo-se assim o extrato bruto de cada planta.

Os extratos brutos foram reconstituídos em Tween 20 e água destilada estéril, atingindo uma concentração de 100mg mL⁻¹. Os extratos foram esterilizados por filtração em membrana de acetato de celulose de 0,45 µm (Milipore), e armazenados em frascos âmbar e mantidos sob refrigeração (9 °C).

4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Para avaliar a atividade antimicrobiana foram preparadas suspensões em solução fisiológica (NaCl a 0,85%) de *Salmonella* spp. contendo 10⁶ células viáveis mL⁻¹ do micro-organismo, padronizadas pela escala 0,5 de McFarland.

Para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos utilizou-se o método de microdiluição em *Brain Heart Infusion* (BHI), de acordo com a metodologia preconizada pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2013).

Diluições seriadas dos extratos foram preparadas em placas de microdiluição com 96 poços, que foram distribuídos, em todos os poços, 0,05 mL de BHI, sendo que nos primeiros poços de cada fileira foi adicionado mais 0,05 mL do extrato ou antisséptico a ser avaliado de forma a representar a diluição ½, em seguida agitado com auxílio de uma micropipeta e, 0,05 mL foram transferidos para o poço seguinte, representando a diluição ¼, sendo agitada e, 0,05 mL novamente transferidos para o poço seguinte (diluição 1/8), e assim sucessivamente, e desta forma as concentrações resultantes foram de 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,13, 1,57 e 0,79 mg. A seguir, foram acrescentados 0,05 mL da suspensão padronizada (10⁶ células viáveis mL⁻¹) das cepas de *Salmonella* spp.

O grupo controle positivo foi constituído por BHI acrescido do inóculo

microbiano e o grupo controle negativo constituído apenas de BHI, a fim de avaliar uma possível contaminação durante a fase experimental. Os testes foram realizados em triplicata. Após incubação por 24 horas a 37 °C foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) seguindo os protocolos do CLSI (2013). A concentração inibitória mínima foi considerada como a menor concentração de extrato capaz de inibir o desenvolvimento bacteriano.

Após determinação da CIM, alíquotas de 0,1 mL foram semeadas em triplicata, em placas de ágar MacConckey, para determinação da concentração mínima bactericida (CMB). Após o período de incubação de 24 horas a 37 °C, verificou-se ausência ou presença de crescimento microbiano (UFC). Para determinação da CMB, foram consideradas as placas que apresentaram ausência de crescimento bacteriano.

4.4 ANÁLISE DOS DADOS

Foi realizada a análise descritiva das CIM e CMB de cada um dos extratos hidroalcoólicos. Aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis para comparar a variação da contagem microbiana dos extratos avaliados. Foram elaborados gráficos de linha para a visualização da evolução da contagem microbiana em relação ao tempo de exposição do microrganismo ao extrato hidroalcoólico e realizada a análise logarítmica da queda da carga microbiana em relação ao tempo de exposição do microrganismo aos extratos testados. Todos os testes estatísticos foram aplicados com nível de significância de 5% ($P < 0,05$). O software utilizado foi o Minitab 17 (Minitab Inc.)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em um primeiro momento foi realizado um estudo com todos os extratos hidroalcoólicos com o objetivo de avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM), a fim de caracterizar o potencial de cada um dos óleos contra o microrganismo *Salmonella spp.* (Tabela 1).

Tabela 1 – Concentrações inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) para cada um dos óleos avaliados no estudo.

Óleo essencial	<i>Salmonella spp.</i>	
	CIM (mg.mL ⁻¹) ¹	CBM (mg.mL ⁻¹) ¹
Citronela	12,5	12,5
Romã	25	50
Alecrim	12,5	12,5
Manjeriçã	6,25	12,5
Capim-limão	25	50
Pitanga	3,13	6,25

¹ CIM: concentração inibitória mínima e CBM: concentração bactericida mínima.

Fonte: Autoria própria.

Os dados apresentados *a posteriori* referem-se às contagens microbianas de *Salmonella spp.* utilizando as concentrações bactericidas mínimas em relação ao tempo de exposição do microrganismo ao extrato hidroalcoólico.

A Tabela 2 mostra a contagem do microrganismo *Salmonella spp.* submetido aos extratos estudados nas suas respectivas concentrações bactericidas mínimas.

Tabela 2 – Média ± desvio padrão (Mediana) da contagem microbiana em relação aos extratos hidroalcoólicos estudados

Óleos essenciais (CBM)	N	Média±desvio padrão (Mediana)	Valor P ¹
Citronela (12,5%)	15	8,6.10 ⁴ ±3,0.10 ⁵ (5,2.10 ²)	0,910
Capim limão (50%)	9	1,6.10 ⁵ ±3,5.10 ⁵ (6,3.10 ³)	
Alecrim (12,5%)	18	1,4.10 ⁵ ±2,8.10 ⁵ (8,0.10 ²)	
Romã (12,5%)	13	1,4.10 ⁵ ±4,0.10 ⁵ (5,0.10 ²)	
Manjeriçã (50%)	9	1,3.10 ⁵ ±3,9.10 ⁵ (6,3.10 ²)	
Pitanga	19	6,5.10 ⁴ ±2,2.10 ⁵ (3,0.10 ²)	

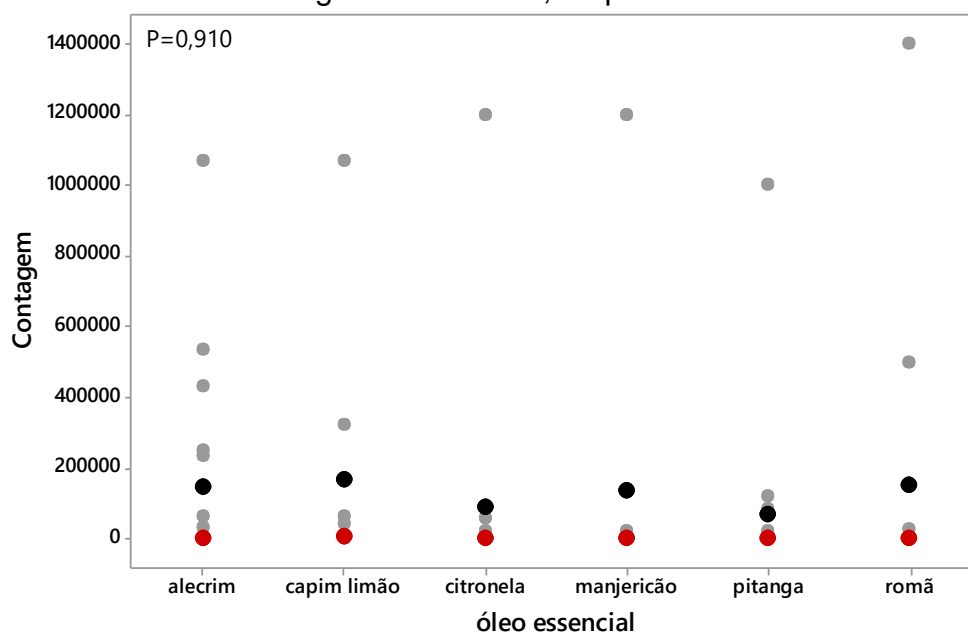
¹ Valor P referente ao teste de Kruskal-Wallis a P<0,05.

Fonte: Autoria própria.

Os resultados da Tabela 2 evidenciam que não houve diferenças significativas entre a contagem microbiana para todos os extratos avaliados, visto que todos os valores (P=0,910) resultaram superiores ao nível de significância adotado (P<0,05). Neste sentido, é possível pressupor que houve redução da carga microbiana de

Salmonella spp., entretanto, os extratos se comportaram de forma semelhante nesta redução. A Figura 1 apresenta o gráfico de valores individuais da contagem microbiana para cada um dos extratos hidroalcoólicos analisados. Os círculos em preto e vermelho indicam as médias e medianas da contagem microbiana, respectivamente.

Figura 1 – Valores individuais da contagem microbiana para cada um dos óleos essenciais avaliados. Círculos pretos e vermelhos indicam as médias e as medianas da contagem microbiana, respectivamente.



Fonte: Autoria própria

A análise descritiva das contagens microbianas revela que alguns extratos hidroalcoólicos, como o alecrim e o manjeriçao, apresentam medianas mais baixas, em contraste, extratos como o de citronela e capim-limão mostram uma maior variabilidade nos valores individuais. Esses resultados estão em concordância com a literatura que destaca a atividade antimicrobiana variável dos extratos vegetais, dependendo da composição química específica de cada um deles (Gyawali; Ibrahim, 2014; Dhiman; Kumar, 2020).

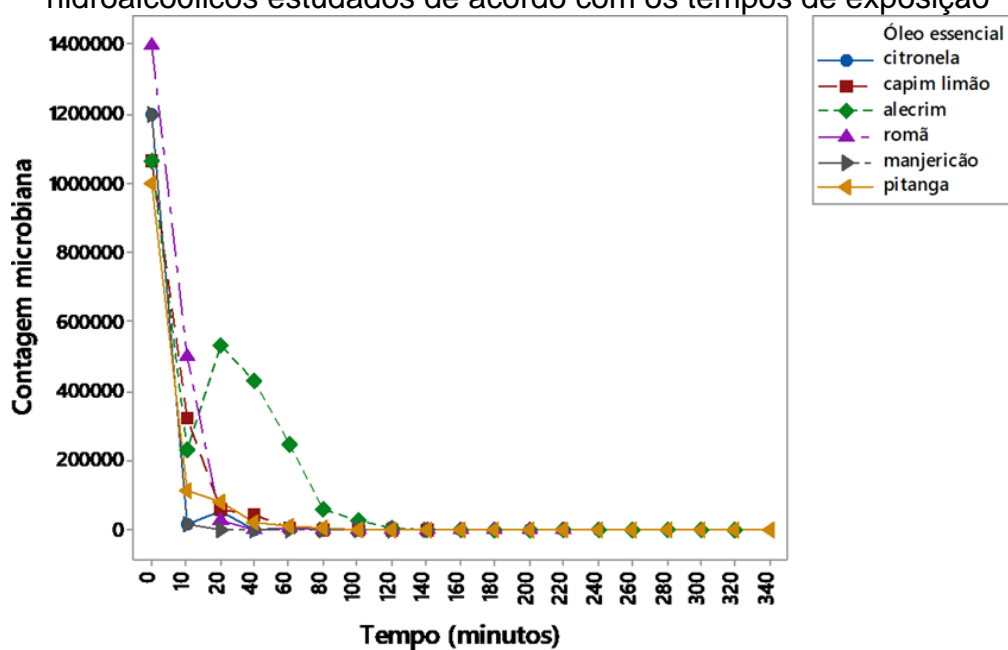
Estudos demonstraram que extratos hidroalcoólicos como os de alecrim e manjeriçao possuem compostos fenólicos e terpenos que conferem uma potente atividade antimicrobiana (Teixeira *et al.*, 2013). Esses compostos são conhecidos por causar danos às membranas celulares dos micro-organismos, levando à inibição do crescimento bacteriano (Burt, 2004). Por outro lado, a eficácia variável observada em

extratos como o de citronela pode ser atribuída à presença de componentes voláteis com menor atividade antimicrobiana (Hammer; Carson; Riley, 1999).

A falta de diferença estatisticamente significativa entre os extratos hidroalcoólicos pode ser explicada pela variação na composição dos extratos vegetais utilizados. É importante considerar que a eficácia dos extratos hidroalcoólicos pode ser influenciada por fatores como a concentração dos compostos ativos, o método de extração e as condições experimentais (Batiha *et al.*, 2021).

As figuras a seguir (2 a 9), mostram o comportamento da contagem microbiana da *Salmonella spp.* de acordo com os tempos avaliados de exposição aos extratos hidroalcoólicos.

Figura 2 – Contagem microbiana de *Salmonella spp.* para todos os extratos hidroalcoólicos estudados de acordo com os tempos de exposição



Fonte: Autoria própria

Na figura 2, fica evidente que todos os extratos hidroalcoólicos causaram uma queda acentuada na contagem microbiana nos primeiros minutos de exposição, com a maioria alcançando uma redução significativa logo nos primeiros 10 minutos.

A análise dos resultados mostra que, logo aos 5 minutos da exposição, extratos como os de alecrim, manjerição e capim-limão apresentam uma drástica redução na contagem de *Salmonella spp.*, aproximando-se de zero após 10 minutos de exposição. Esta rápida inibição microbiana pode ser atribuída à presença de compostos fenólicos e terpenos nestes vegetais, conhecidos por suas propriedades

antimicrobianas (Chouhan; Sharma; Guleria, 2017).

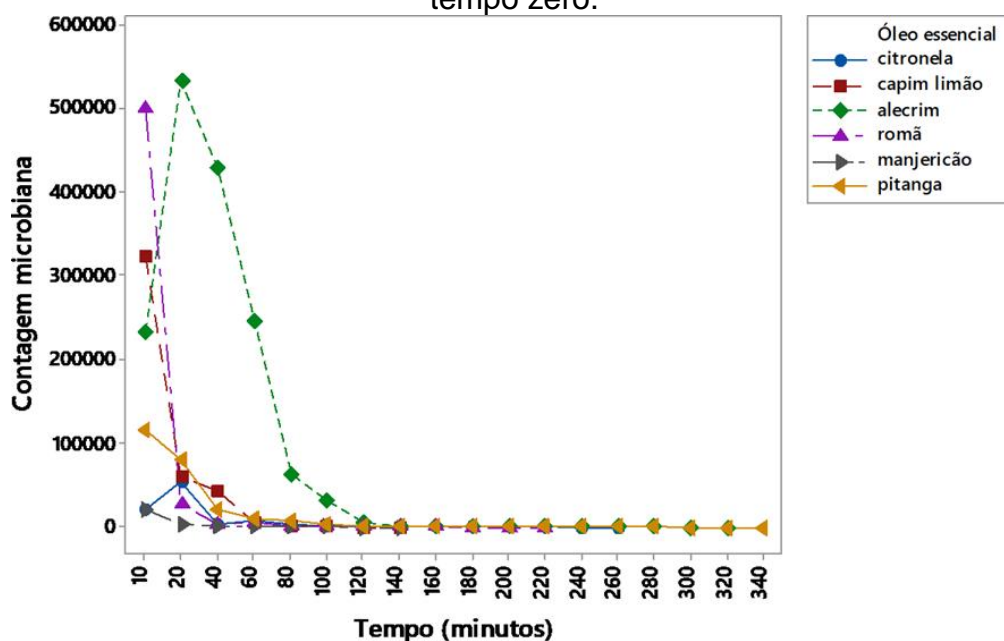
Extratos hidroalcoólicos como os de romã e citronela também demonstram uma redução rápida e significativa, mas com uma pequena variabilidade nas contagens iniciais. Isso pode indicar uma ação antimicrobiana eficaz, porém, ligeiramente menos consistente comparada aos outros extratos. Estudos apontam que a composição química específica de cada extrato hidroalcoólico influencia diretamente sua eficácia antimicrobiana (Dhifi *et al.*, 2016).

O extrato de pitanga, embora eficaz, mostra uma curva de inibição microbiana um pouco mais gradual nos primeiros 10 minutos, alcançando zero após 15 minutos de exposição. Essa diferença pode ser decorrente de diferentes concentrações de compostos ativos ou da variabilidade na resposta das cepas de *Salmonella* spp. utilizadas no estudo.

Estes resultados corroboram com a literatura existente, que destaca a eficácia dos extratos hidroalcoólicos na inibição de diversos patógenos alimentares, incluindo a *Salmonella* spp. (Gyawali; Ibrahim, 2014; Gochev *et al.*, 2010). A ação rápida e eficaz observada nos extratos avaliados neste estudo sugere seu potencial como agentes antimicrobianos naturais em sistemas de conservação de alimentos, oferecendo uma alternativa promissora aos conservantes químicos tradicionais, muitas vezes associados a efeitos adversos à saúde (Calo *et al.*, 2015; Periasamy; Athinarayanan; Alshatwi, 2016; Mendonça *et al.*, 2018).

A Figura 3 apresenta a contagem microbiana de *Salmonella* spp. ao longo do tempo de exposição aos diferentes extratos hidroalcoólicos analisados, excluindo o tempo zero. A análise revela que todos os extratos hidroalcoólicos avaliados (citronela, capim-limão, alecrim, romã, manjerição e pitanga) são eficazes na redução da carga microbiana de *Salmonella* spp., com variações na velocidade e na eficácia da ação antimicrobiana.

Figura 3 – Contagem microbiana de *Salmonella* spp. para todos os extratos hidroalcoólicos analisados de acordo com os tempos de exposição, excluindo o tempo zero.



Fonte: Autoria própria

Nos primeiros 10 minutos de exposição, observa-se uma queda drástica na contagem microbiana para todos os extratos hidroalcoólicos. O extrato de alecrim mostra uma variabilidade maior na contagem microbiana inicial, mas alcança uma redução significativa após 20 minutos. Esse comportamento pode ser explicado pela variabilidade nos componentes ativos presentes no alecrim, como o eucaliptol e o canfeno, que possuem diferentes tempos de ação antimicrobiana (Machado *et al.*, 2020; Abdollahzadeh; Rezaei; Hosseini, 2017).

O extrato de romã apresenta uma queda acentuada na contagem microbiana nos primeiros 5 minutos, seguido por uma estabilização. A eficácia antimicrobiana da romã pode ser atribuída à presença de punicalaginas e ácido elágico, conhecidos por suas propriedades antimicrobianas (Silva *et al.*, 2021). A citronela e o capim-limão também mostram uma redução significativa na contagem microbiana, estabilizando em níveis baixos após os primeiros 10 minutos de exposição. Esses vegetais contêm compostos como citronelal e citral, que possuem forte ação antimicrobiana (Brito *et al.*, 2018).

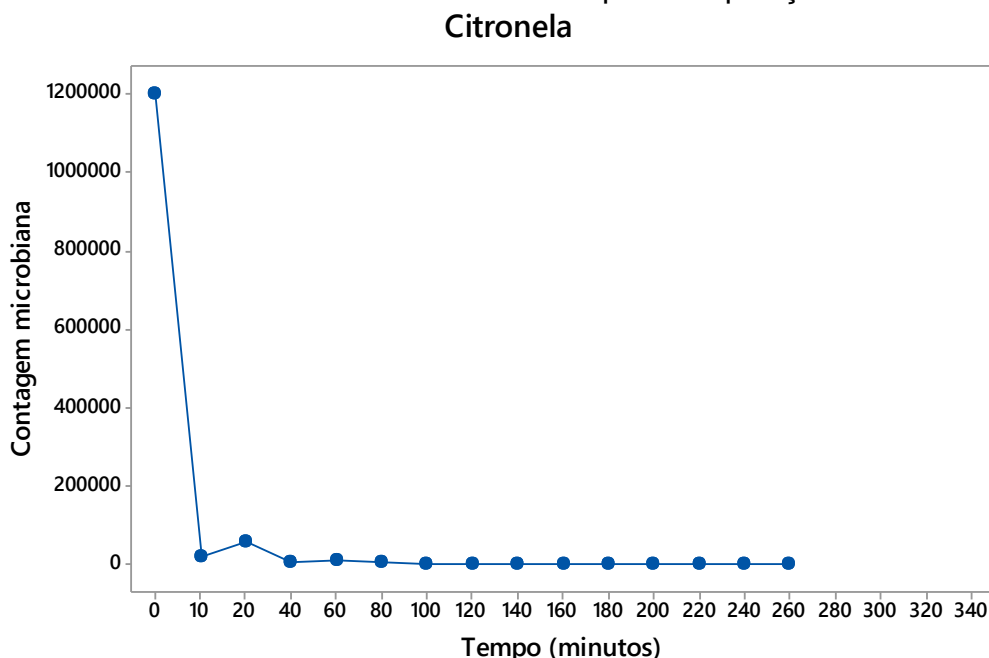
Os extratos de manjerição e de pitanga apresentaram comportamentos semelhantes, com uma rápida redução na contagem microbiana nos primeiros minutos e uma estabilização subsequente. A eficácia desses extratos hidroalcoólicos

pode ser atribuída a compostos como linalol e mirceno, presentes no manjeriço, e ao ácido chicórico e flavonoides, presentes na pitanga, que possuem propriedades antimicrobianas bem documentadas (Brun; Mossi, 2010; Chaleshtori *et al.* 2015).

Os resultados da presente pesquisa são consistentes com a literatura existente, que destaca a eficácia dos extratos hidroalcoólicos na inibição de diversos patógenos alimentares, incluindo a *Salmonella* spp (Machado *et al.*, 2012).

A Figura 4 apresenta a contagem microbiana de *Salmonella* spp. em relação ao tempo de exposição ao extrato de citronela, em que é possível observar uma redução significativa na contagem microbiana logo nos primeiros 10 minutos de exposição, indicando uma forte atividade antimicrobiana inicial. Essa queda rápida na população bacteriana sugere que o extrato de citronela possui compostos bioativos com alta eficiência na inibição de *Salmonella* spp. Essa ação antimicrobiana rápida e eficaz é frequentemente associada à presença de componentes como citronelal, geraniol e citronelol, que são conhecidos por suas propriedades antimicrobianas, conforme relatado por Wiest *et al.* (2009).

Figura 4 – Contagem microbiana de *Salmonella* spp. para o extrato hidroalcoólico de citronela de acordo com o tempo de exposição



Fonte: Autoria própria

Após os 10 minutos iniciais de exposição, a contagem microbiana se estabiliza em níveis extremamente baixos, mantendo-se próxima de zero ao longo de todo o período de exposição restante (até 300 minutos). Isso demonstra não apenas uma

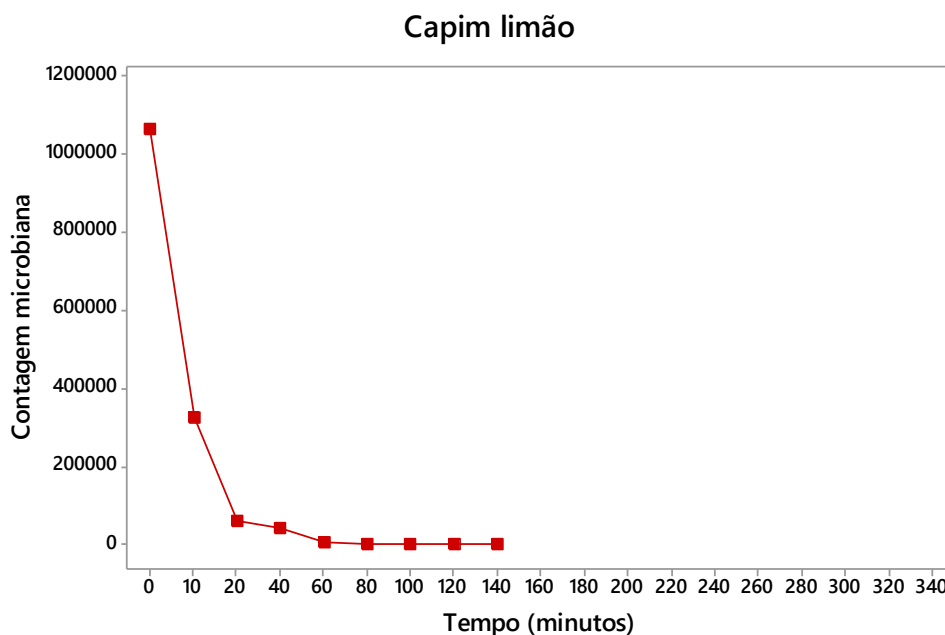
rápida ação bactericida, mas também a capacidade do extrato hidroalcoólico de citronela de manter seu efeito antimicrobiano ao longo do tempo, impedindo a recuperação ou o crescimento adicional das bactérias. Segundo Silva *et al.* (2013), os óleos essenciais de doze plantas, incluindo a citronela, podem apresentar atividade antimicrobiana prolongada devido à persistência de seus compostos ativos no meio.

Além disso, a metodologia aplicada para avaliar a atividade antimicrobiana, seguindo os padrões do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), garante a confiabilidade dos resultados apresentados. A técnica de microdiluição, utilizada para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM), é amplamente reconhecida na literatura científica como um método robusto para testes de suscetibilidade antimicrobiana (CLSI, 2013).

A Figura 5 ilustra a contagem microbiana de *Salmonella* spp. ao longo do tempo de exposição ao extrato de capim limão. Semelhante ao observado com a citronela, há uma drástica redução na contagem microbiana nos primeiros 10 minutos de exposição, sugerindo uma forte atividade antimicrobiana inicial do extrato de capim limão. Essa redução rápida pode ser atribuída aos componentes ativos do extrato, como o citral, geraniol e mircenol, conhecidos por suas propriedades antimicrobianas, conforme relatado por Michelin *et al.* (2005).

Verificou-se, na Figura 5, que após os 10 minutos iniciais de exposição, a contagem microbiana continuou a diminuir, atingindo níveis quase indetectáveis e se mantendo assim até o final do período de observação de 300 minutos. Este comportamento sugere não só uma eficácia inicial na eliminação das células bacterianas, mas também a capacidade de manter um ambiente inóspito para o crescimento bacteriano, prevenindo a recuperação de *Salmonella* spp.

Figura 5 – Contagem microbiana de *Salmonella* spp. para o óleo de capim limão de acordo com os tempos de exposição.



Fonte: Autoria própria

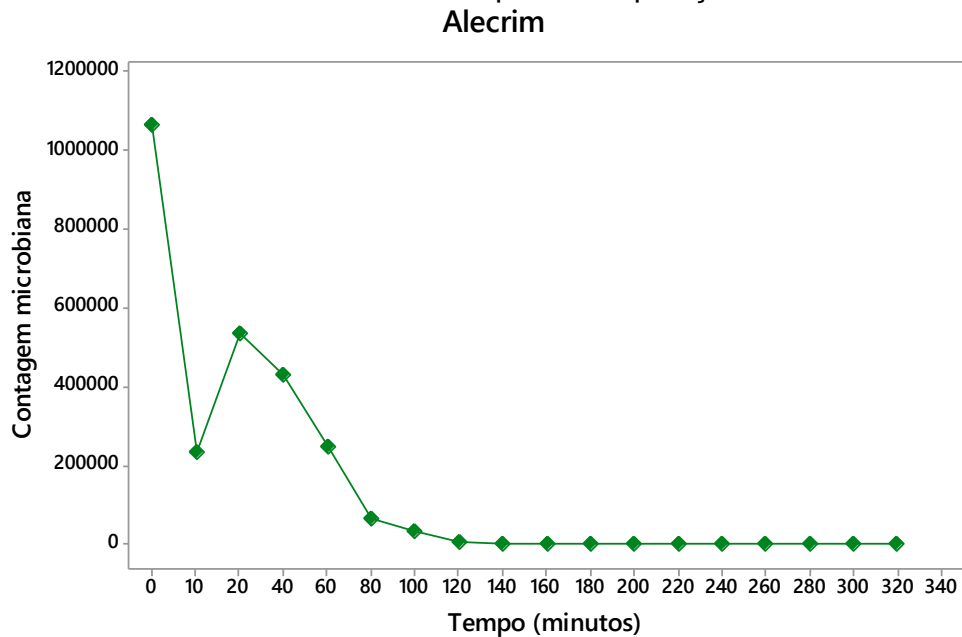
O método utilizado para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Mínima Bactericida (CMB) segue as diretrizes estabelecidas pelo CLSI (2013), garantindo a validade e a reprodutibilidade dos resultados. O uso da técnica de microdiluição em BHI é reconhecido por sua precisão em estudos de suscetibilidade antimicrobiana, o que reforça a confiabilidade dos dados obtidos na pesquisa.

A Figura 6 apresenta a contagem microbiana de *Salmonella* spp. em função do tempo de exposição do extrato hidroalcoólico de alecrim. Similar às observações feitas com os de citronela e capim-limão, há uma queda inicial significativa na contagem bacteriana nos primeiros 10 minutos de exposição, indicando uma rápida atividade antimicrobiana do extrato de alecrim. Esse comportamento pode ser atribuído à presença de compostos como ácido rosmarínico, carnosol e carnosina, que possuem propriedades antimicrobianas bem documentadas, conforme relatado por Nader *et al.* (2010).

Após a queda inicial, a contagem microbiana apresenta uma leve flutuação entre os 20 e 60 minutos, seguida por uma estabilização em níveis baixos a partir dos 80 minutos de exposição até o final do período de 300 minutos. Essa estabilização sugere que, apesar de uma redução inicial rápida, há um período de adaptação ou

resistência bacteriana, seguido por uma manutenção efetiva do efeito antimicrobiano do extrato de alecrim. Estudos anteriores, como os de Ostrosky *et al.* (2008), mostram que os óleos essenciais, incluindo o de alecrim, podem ter variações na eficácia dependendo da concentração e do tempo de exposição, mas geralmente mantêm um efeito antimicrobiano prolongado devido à persistência de seus componentes ativos

Figura 6 – Contagem microbiana de *Salmonella spp.* para o óleo de alecrim de acordo com os tempos de exposição.



Fonte: Autoria própria

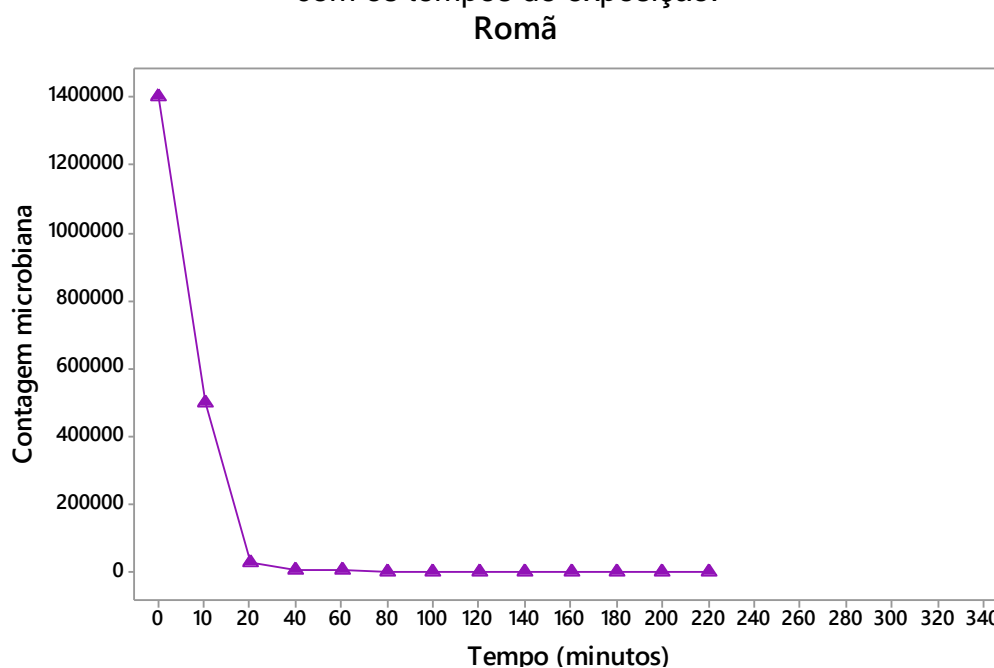
A figura 6 demonstra a eficácia do extrato hidroalcoólico de alecrim como agente antimicrobiano contra a *Salmonella spp.*, exibindo uma rápida redução inicial na contagem bacteriana seguida de uma estabilização sustentada. Esses resultados, corroborados pela literatura, reforçam o potencial dos extratos hidroalcoólicos como alternativas naturais aos antimicrobianos sintéticos, especialmente em um contexto de crescente resistência bacteriana.

Na Figura 7 apresenta-se a curva de contagem microbiana de *Salmonella spp.* em função do tempo de exposição ao extrato hidroalcoólico de romã, observando-se redução drástica na contagem de microrganismos nos primeiros 30 minutos de exposição, com uma diminuição de aproximadamente 14 milhões de UFC para praticamente zero. A queda acentuada na contagem microbiana logo no início do experimento indica que o extrato hidroalcoólico da romã possui uma ação bactericida rápida contra *Salmonella spp.* Essa eficiência inicial é um indicativo do potencial uso do extrato como agente antimicrobiano em situações em que uma resposta rápida é

essencial. O extrato de romã possui compostos bioativos, como punicalaginas e ácido elágico, que apresentam propriedades antimicrobianas significativas (Pessini *et al.*, 2003).

Após os primeiros 30 minutos, a contagem microbiana se estabiliza e permanece próxima de zero ao longo do restante do período de observação. Este comportamento sugere que, além da ação inicial rápida, o extrato de romã mantém uma eficácia prolongada, impedindo o crescimento e a proliferação de *Salmonella* spp. durante o experimento. Tal característica é desejável em agentes antimicrobianos, pois garante a inibição contínua do patógeno ao longo do tempo (Bajpai; Baek; Kang, 2018).

Figura 7 – Contagem microbiana de *Salmonella* spp. para o óleo de romã de acordo com os tempos de exposição.



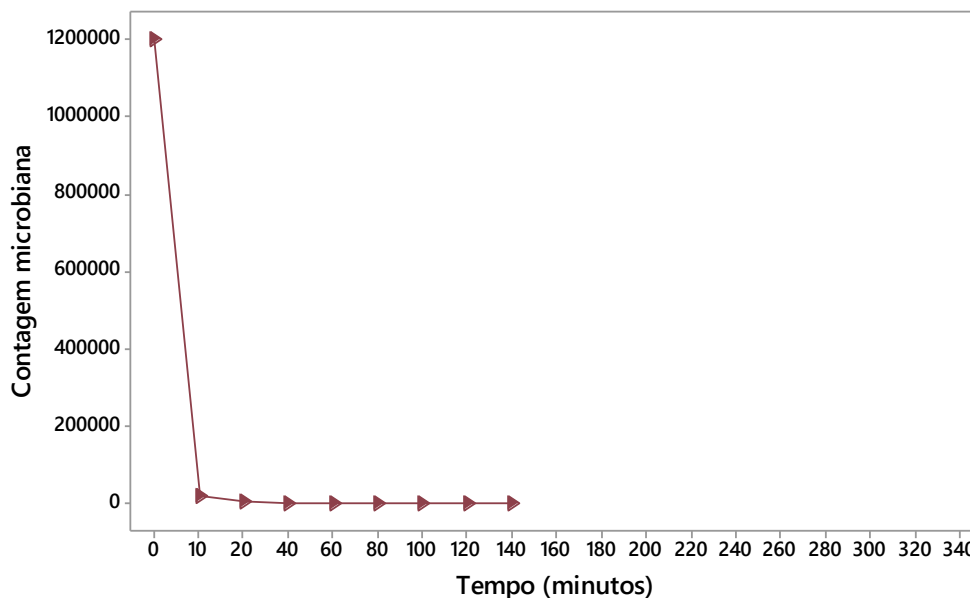
Fonte: Autoria própria

A atividade antimicrobiana de extratos vegetais indicam que a eficácia pode variar consideravelmente entre diferentes espécies de plantas e métodos de extração. No entanto, a eficácia observada com o extrato de romã está alinhada com a literatura existente, que destaca a potência desta frutífera contra diversos patógenos bacterianos (Vargas *et al.*, 2004).

A Figura 8 apresenta a contagem microbiana de *Salmonella* spp. ao longo do tempo de exposição ao extrato hidroalcoólico do manjeriço. Semelhante à observação com o de romã, há uma redução substancial na contagem de

microrganismos nos primeiros minutos de exposição, com uma queda de aproximadamente 12 milhões de UFC para quase zero.

Figura 8 – Contagem microbiana de *Salmonella spp.* para o óleo de manjeriço de acordo com os tempos de exposição.
Manjeriço



Fonte: Autoria própria

A curva demonstra uma queda acentuada na contagem de *Salmonella spp.* logo nos primeiros 20 minutos de exposição ao extrato de manjeriço. Esta redução rápida sugere uma ação bactericida potente no manjeriço, o que é consistente com estudos que destacam a presença de compostos como o linalol e o eugenol, conhecidos por suas propriedades antimicrobianas (Simonetti *et al.*, 2016).

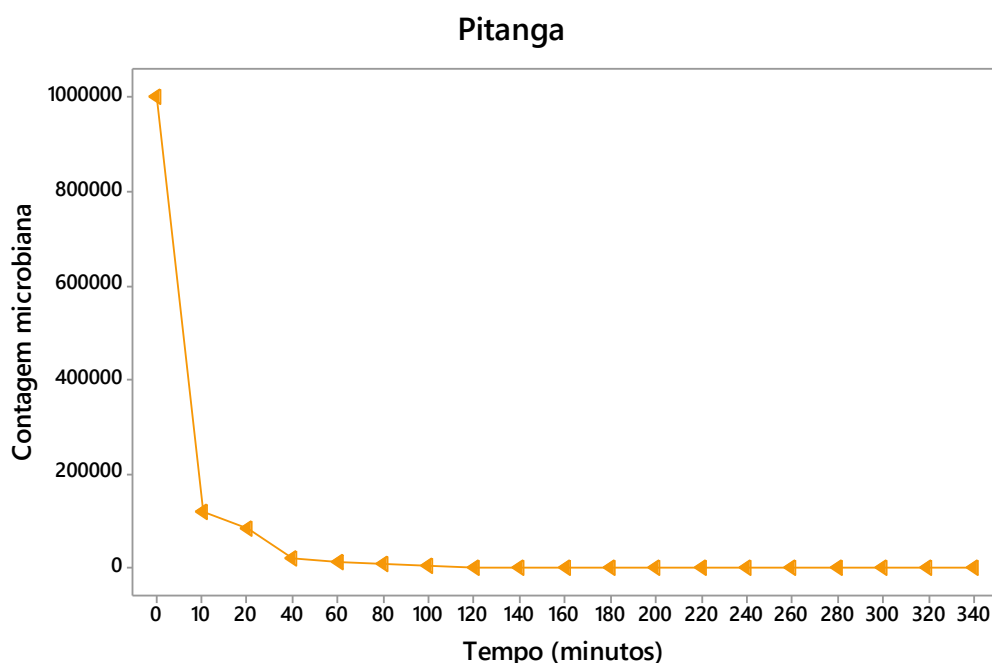
Após a queda inicial, a contagem microbiana se mantém praticamente constante e próxima de zero, indicando uma eficácia sustentada do extrato hidroalcoólico de manjeriço ao longo do tempo. Este resultado é indicativo de que o extrato não apenas elimina rapidamente as bactérias presentes, mas também previne o seu crescimento subsequente, o que é crucial para aplicações práticas na preservação de alimentos e controle de infecções (Bajpai; Baek; Kang, 2018).

A análise dos dados apresentados na Figura 8 destaca o extrato hidroalcoólico de manjeriço como um agente antimicrobiano eficaz contra *Salmonella spp.* A ação rápida e prolongada deste extrato é uma característica valiosa, especialmente para a indústria alimentícia e a medicina, onde a segurança e a eficácia são primordiais. Continuar a pesquisa nesta área pode levar ao desenvolvimento de novos produtos

antimicrobianos baseados em plantas medicinais.

A Figura 9 ilustra a contagem microbiana de *Salmonella* spp. ao longo do tempo de exposição ao extrato hidroalcoólico da pitanga. Assim como nos gráficos anteriores, há uma redução substancial na contagem de microrganismos nos primeiros minutos de exposição, com uma queda significativa de aproximadamente 10 milhões de UFC.

Figura 9 – Contagem microbiana de *Salmonella* spp. para o óleo de pitanga de acordo com os tempos de exposição.



Fonte: Autoria própria

A curva demonstra uma queda acentuada na contagem de *Salmonella* spp. nos primeiros 30 minutos de exposição ao extrato hidroalcoólico da pitanga. Essa redução rápida indica que o extrato de pitanga possui uma ação bactericida eficaz contra a *Salmonella* spp., o que pode ser atribuído à presença de compostos bioativos como os flavonoides e os taninos, conhecidos por suas propriedades antimicrobianas (Simonetti *et al.*, 2016).

Após a queda inicial, a contagem microbiana estabiliza-se próxima de zero, sugerindo que o extrato hidroalcoólico de pitanga mantém sua eficácia ao longo do tempo. Esse comportamento é indicativo de que o extrato não apenas elimina rapidamente as bactérias presentes, mas também impede o crescimento subsequente dos microrganismos, uma característica desejável em agentes antimicrobianos

naturais (Costa; Silva Junior, 2017).

Estudos sobre a atividade antimicrobiana de extratos de pitanga relatam a presença de atividades bactericidas contra diversos patógenos alimentares. A eficácia observada na Figura 9 está de acordo com essas descobertas, confirmando o potencial do extrato hidroalcoólico da pitanga como uma alternativa natural no combate a *Salmonella* spp. (Vargas *et al.*, 2004).

A análise dos dados apresentados na Figura 9 evidencia o extrato hidroalcoólico de pitanga como um agente antimicrobiano eficaz contra *Salmonella* spp. A ação rápida e sustentada do extrato é uma característica importante, especialmente para a indústria alimentícia e farmacêutica, onde a segurança e a eficácia são essenciais.

De acordo com as figuras acima (2 a 9), é possível observar que todos os extratos hidroalcoólicos apresentaram efeito contra a *Salmonella* spp., já que todos eles conseguiram anular a carga microbiana. Entretanto, alguns apresentaram maior efetividade, pois anularam a carga microbiana em menor tempo.

Os extratos hidroalcoólicos de capim limão e manjerição foram os que apresentaram maior efetividade no combate à *Salmonella* spp. visto que a carga microbiana deste microrganismo foi nula em 140 minutos. Para os demais extratos hidroalcoólicos foi necessário um tempo superior para anular a carga microbiana. Os extratos de alecrim e pitanga foram os que apresentaram maiores tempos para tornar a carga microbiana nula, 320 e 340 minutos, respectivamente.

Para a avaliação da eficácia do efeito antimicrobiano de cada um dos extratos hidroalcoólicos, um estudo sobre a variação da carga microbiana foi realizado a fim de observar qual extrato hidroalcoólico apresentou a maior variação negativa (queda) na contagem microbiana.

As variações negativas evidenciam diminuição na contagem microbiana e variações positivas mostram aumento da contagem microbiana à medida que o tempo de exposição aumenta. A Tabela 3 apresenta a média, desvio padrão e mediana da variação percentual na contagem microbiana para os diferentes extratos hidroalcoólicos utilizados.

Tabela 3 – Média±desvio padrão (Mediana) da variação percentual (%) da contagem microbiana em relação aos óleos essenciais avaliados.

Óleos essenciais	Média±desvio padrão (Mediana)	Mediana	Valor P ¹
Citronela	-35,6±73,6	-46,3	0,209
Capim limão	-77,0±22,4	-83,2	
Alecrim	-42,6±54,7	-49,7	
Romã	-42,8±82,9	-80,8	
Manjerição	-76,1±20,3	-82,0	
Pitanga	-31,4±80,4	-55,6	

¹ Valor P referente ao teste de Kruskal-Wallis a $P < 0,05$.

Fonte: Autoria própria

A comparação da variação da contagem microbiana entre os tratamentos resultou na ausência de diferenças significativas, já que o valor P resultou superior a 0,05. Esse resultado indica que o comportamento da redução da carga microbiana não apresentou diferenças significativas quando os extratos hidroalcoólicos foram comparados. De uma forma geral, todos os extratos hidroalcoólicos apresentaram efetividade contra o microrganismo analisado, pois todos apresentaram variações negativas de carga microbiana, indicando queda desta. Entretanto, tais variações não se diferenciaram de forma estatística.

Apesar da ausência de diferenças significativas entre os tratamentos, o extrato de capim limão (83,2% de redução) foi o que apresentou maior redução microbiana, seguido do extrato de manjerição (82,0% de redução) e romã (80,8% de redução). Os extratos hidroalcoólicos que apresentaram menor redução da carga microbiana foram a pitanga com 55,6 % de redução, o alecrim com 49,7% de redução e a citronela com 46,3% de redução.

A variação percentual média para o extrato de citronela é de -35,6% com um desvio padrão de 73,6%, e uma mediana de -46,3%. O alto desvio padrão indica uma grande variabilidade nos resultados, sugerindo que a eficácia da citronela pode ser inconsistente. O valor P de 0,209 indica que a diferença na redução microbiana não é estatisticamente significativa.

O extrato do capim limão apresenta uma variação média de -77,0% e um desvio padrão de 22,4%, com uma mediana de -83,2%. Esses valores sugerem uma redução microbiana mais consistente e eficaz, com menor variabilidade em comparação com a citronela. A eficácia mais uniforme do capim limão pode ser atribuída a componentes como o citral, conhecido por suas propriedades antimicrobianas (Saboia *et al.*, 2022).

Para o extrato de alecrim, a variação média é de -42,6% com um desvio padrão de 54,7%, e uma mediana de -49,7%. Os dados mostram uma redução moderada na

contagem microbiana, com variabilidade significativa. Esta variabilidade pode estar relacionada à concentração e à composição dos compostos ativos presentes no extrato hidroalcoólicos do alecrim (Bozin *et al.*, 2007).

O extrato hidroalcoólico da romã tem uma variação média de -42,8% e um desvio padrão de 82,9%, com uma mediana de -80,8%. Assim como a citronela, o extrato de romã apresenta alta variabilidade, sugerindo que sua eficácia pode ser afetada por fatores como a concentração de compostos bioativos (Negi; Jayaprakasha, 2003).

A variação média para o extrato hidroalcoólico do manjeriço é de -76,1% com um desvio padrão de 20,3%, e uma mediana de -82,0%. Os resultados indicam uma redução microbiana eficaz e consistente, semelhante ao capim limão. O manjeriço é rico em compostos como linalol e eugenol, que possuem fortes propriedades antimicrobianas (Hussain *et al.*, 2008).

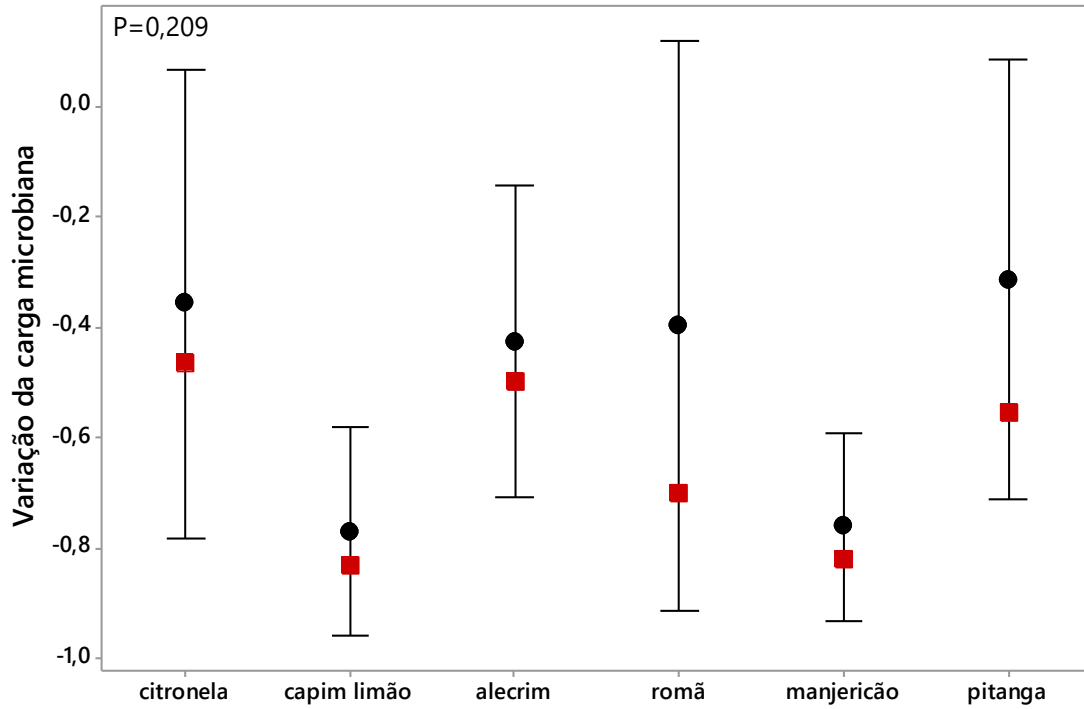
Para o extrato hidroalcoólico da pitanga, a variação média é de -31,4% com um desvio padrão de 80,4%, e uma mediana de -55,6%. A alta variabilidade e a menor média de redução sugerem que, embora eficaz, o extrato de pitanga pode ter uma eficácia menos previsível em comparação com os de capim limão e manjeriço.

O teste de Kruskal-Wallis resultou em um valor P de 0,209, indicando que não há diferença estatisticamente significativa entre os extratos hidroalcoólicos avaliados. Isso sugere que, embora alguns, como o capim limão e o manjeriço, tenham mostrado maior consistência e eficácia na redução microbiana, a variabilidade dentro dos grupos impede uma conclusão definitiva sobre a superioridade de um extrato hidroalcoólico específico. Os dados já apresentados na tabela 3 indicam que todos os extratos hidroalcoólicos testados possuem algum grau de atividade antimicrobiana contra a *Salmonella* spp., com variações em eficácia e consistência como o capim limão e o manjeriço que mostraram maior eficácia e menor variabilidade, sugerindo seu potencial como alternativas naturais para controle microbiano.

A Figura 10 ilustra a variação percentual da contagem microbiana dos extratos hidroalcoólicos estudados.e.reitera o resultado obtido na análise comparativa, evidenciando a ausência de diferenças significativas entre as variações da carga microbiana dos extratos hidroalcoólicos, visto que todos os intervalos de confiança se sobrepõem. Os círculos e quadrados indicam as médias e as medianas da variação da contagem microbiana, respectivamente. A sobreposição dos intervalos de confiança entre todos os extratos hidroalcoólicos avaliados reitera a ausência de

diferenças significativas entre eles.

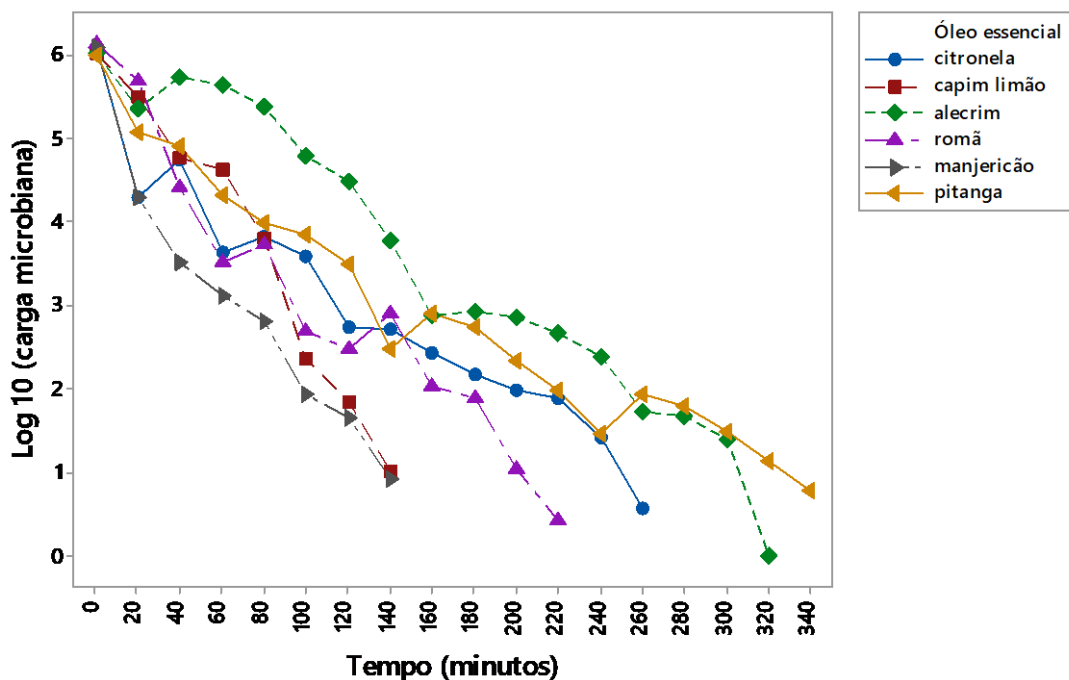
Figura 10 – Variação percentual da contagem microbiana dos óleos essenciais estudados. Círculos e quadrados indicam as médias e as medianas da variação da contagem microbiana, respectivamente.



Fonte: Autoria própria

A Figura 11 mostra o comportamento logarítmico da queda da carga microbiana ao longo do tempo de exposição da *Salmonella spp.* aos extratos hidroalcoólicos estudados.

Figura 11 – Redução logarítmica da carga microbiana de cada um dos óleos essenciais ao longo do tempo.



Fonte: Autoria própria

É possível notar que os extratos hidroalcoólicos de capim limão e manjerição foram os mais efetivos contra a *Salmonella* spp., pois a carga microbiana atingiu a contagem nula em menor tempo quando comparado aos demais extratos hidroalcoólicos. Em termos de efetividade dos extratos estudados, do mais efetivo para o menos efetivo temos: capim limão e manjerição com 140 minutos de exposição, romã com 220 minutos de exposição, citronela com 260 minutos de exposição, alecrim com 320 minutos e, por fim, pitanga com 340 minutos de exposição.

Voss-Rech et al. (2011), demonstraram atividade bacteriostática e bactericida com CIM de 80 e 240 mg/mL⁻¹ para *Eugenia uniflora*. Neste estudo foi evidenciada a CIM de 3,13 mg/mL¹ e CMB de 6,25 mg/mL¹ para este mesmo extrato. Substâncias como flavonoides, sesquiterpenos, taninos, pigmentos antocianinas e saponinas foram identificadas em sua composição (Lorenzi; Matos, 2002). Relatos comprovam a atividade antimicrobiana de taninos e saponinas (Louguercio et al., 2005; Raven, 2007; Santos; Mello, 2003; Voravuthikunchai et al., 2005).

Destaca-se o fato de que uma reduzida parcela das denominadas plantas medicinais tenha sido avaliada em experimentos *in vitro* ou *in vivo*, sendo que o ritmo de ocupação antrópica dos biomas vegetais é infinitamente maior do que a capacidade de avaliação das propriedades biológicas das plantas que se extinguem,

particularmente quando são considerados ecossistemas complexos e ricos (Batalha; Mantovani; Mesquita Junior, 2001).

Verificou-se que as plantas que possuem atividade antimicrobiana não são, ou são pouco utilizadas para o controle microbiano e mesmo para tratamentos de infecções são encontradas referências ao seu uso como parte da medicina popular em outras áreas, como anti-inflamatórios, antirreumáticos, antidiarreicos e outros usos populares (Oliveira, 2009).

6 CONCLUSÃO

O trabalho mostrou que frente às bactérias estudadas, 100% dos extratos das plantas testadas possuem a capacidade de inibição de crescimento bacteriano, abrindo possibilidades para a utilização dessa matéria prima no controle de *Salmonella spp.* Os dados obtidos revelam que os extratos hidroalcoólicos de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e de *Ocimum basilicum* (manjerição) se destacaram como os mais eficientes possuindo um potencial significativo como agentes antimicrobianos naturais, com propriedades promissoras para o controle de infecções por *Salmonella spp.* Esses achados fornecem uma base sólida para a exploração e desenvolvimento de novos produtos antimicrobianos a partir de plantas medicinais, contribuindo para a saúde pública e segurança alimentar. As possibilidades são abrangentes na utilização em forma de chás, extratos ou mesmo óleos essenciais.

REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHZADEH, E.; REZAEI, M.; HOSSEINI, H. Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. **Food Control**, [S. l.], v. 35, n. 1, p. 177-183, 2014. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713513003435>. Access: 22 Jul. 2024.
- ALBUQUERQUE, U. P. *et al.* Medicinal plants of the Caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, [S., l.], v.114, p. 325-354, 2007.
- ALMEIDA, M. Z. **Plantas medicinais**. 3. ed. Salvador: EDUFBA, 2011. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/xf7vy/pdf/almeida-9788523212162.pdf>. Acesso em: 22 jul. 2024.
- ALMUZAINI, A. M. Phytochemicals: potential alternative strategy to fight *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. **Frontiers Veterinary Science**, Lausanne, v. 10, 2023. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/veterinary-science/articles/10.3389/fvets.2023.1188752/full>. Access: 11 Jul 2024.
- AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J. M. Atividade desinfetante do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. e *Shclecht. Guttiferae* ("escadinha/sinapismo"), frente a diferentes doses infectantes de *Staphylococcus aureus* (agente infeccioso de mastite bovina). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Maringá, v.10, p.90-98, 2008.
- BAJPAI, V. K.; BAEK, K. H.; KANG, S. C. Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: a review. **Food Research International**, [S. l.], v. 45, n. 2, p. 722-734, 2018.
- BATALHA, M. A.; MANTOVANI, W.; MESQUITA JUNIOR, H. N. Vegetation structure in cerrado physiognomies in south-eastern. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 61, n. 3, p. 475-483, 2001. Available from: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/4GcRnzSPFQVMTtbmz9M5C4G/>. Access: 11 Jul. 2024.
- BATIHA, G. E. S. *et al.* Application of natural antimicrobials in food preservation: Recent views. **Food Control**, [S. l.], v. 126, 108066, 2021. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713521002048?__cf_chl__tk=i9L8U_R3EcNdKOiLua15_Wt1p6ucwvx_jKh.42.9wE-1727135485-0.0.1.1-6932. Access: 11 Jul. 2024.
- BOZIN, B. *et al.* Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 5, p. 1822- 1828, 2007. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf051922u>. Access: 20 Jul. 2024.

BRANDELLI, C. L. C. Plantas medicinais: histórico e conceitos. *In*: MONTEIRO, S. C.; BRANDELLI, C. L. C. (org.). **Farmacobotânica**: aspectos teóricos e aplicação. Porto Alegre: Artmed, 2017. Cap. 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.**: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*. Brasília: Ministério da Saúde, 2011. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_tecnico_diagnostico_laboratorial_salmonella_spp.pdf. Acesso em: 23 jul. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf. Acesso em: 23 jul. 2024.

BRITO, R. *et al.* Utilização de óleos essenciais de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*Cymbopogon nardus*) e óleo de nim (*Azadirachta indica*) no controle de insetos e microorganismos. *In*: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE AGROECOLOGIA, 6; CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 10; SEMINÁRIO DE AGROECOLOGIA DO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO, 5; 2017, Brasília. **Anais** [...]. Brasília, v. 13 n. 1. Disponível em: <https://cadernos.aba-agroecologia.org.br/cadernos/article/view/1368/1779>. Acesso em: 15 jul. 2024.

BRUN, G. R.; MOSSI, A. J. Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de pitanga (*Eugenia uniflora* L.). **Perspectiva**, Erechim. v.34, n.127, p. 135-142, set. 2010.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. **International Journal of Food Microbiology**, [S. L.], v. 94, n. 3, p. 223- 253, 2004.

CALO, J. R. *et al.* Essential oils as antimicrobials in food systems: a review. **Food Control**, [S. I.], 2015. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713515000456>. Access: 20 Jul. 2024.

CELIK TAS, O. Y. *et al.* Antimicrobial activity of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis* depending on location and seasonal variations. **Food Chemistry**, Easton, v.100, p. 553-559, 2005. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030881460500899X>. Access: 03 Jul. 2024.

CHALESHTORI, S. *et al.* Antioxidant and antibacterial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil in beef burger. **Journal of Agricultural Science and Technology**, [S. I.], v. 17, n. 4, p. 817-826, 2015.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. Antimicrobial activity of some essential oils - Present status and future perspectives. **Medicine**, v. 4, n. 3, p. 58, 2017. doi: 10.3390/medicines4030058. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5622393/>. Access: 29 Jul 2024.

CLSI- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 23rd Informational Supplement. Wayne: CLSI, 2013.

COSTA, A. L. P.; SILVA JUNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, Macapá, v. 07, n.2, p. 45-54, maio/ago. 2017. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/e9dd/6f9ef66c2f4cb74b683178b78d45d83d46e6.pdf> Acesso em: 29 jul. 2024.

DEHGHANI, M.; SAEIDI, S. Antimicrobial Effects of Medicinal Plant Species on *Salmonella typhimurium* Strains Isolated from Poultry Feces Samples. **Jentashapir J Cell Mol Biol.**, Hertogenbosch, v. 14, n. 4, e135947, 2023. <https://doi.org/10.5812/jjcmb-135947>. Available from: <https://brieflands.com/articles/jjcmb-135947>. Access: 29 Jul 2024.

DHIFI, W. *et al.* Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review. **Medicine**, [S. l.], v. 3, n. 4, p. 25, 2016. Available from: <https://www.mdpi.com/2305-6320/3/4/25>. Access: 29 Jul 2024.

DHIMAN, R.; KUMAR, A. N. Efficacy of plant antimicrobials as preservative in food. *In*: SOCACI, S. A. (ed.) **Food Preservation and Waste Exploitation**. [S. l.]: IntechOpen, 2020. Cap. 4. doi:10.5772/intechopen.83440. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/66361#>. Access: 29 Jul 2024.

DUARTE, M. C. *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de espécies da coleção de plantas medicinais. CPQBA/UNICAMP. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v.14, supl. 01, p.06-08, 2004.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Aplicação de antimicrobianos naturais na conservação de alimentos**. Documentos / Embrapa Agroindústria Tropical, 2011.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Extratos Vegetais**. [N.11. 2010]. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/120.pdf>. Acesso em 26 set. 2016.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2004.

GOCHEV, V. *et al.* Antimicrobial activity of essential oil from *Rosa alba*. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v. 24, p. 512-515, 2010.

GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Natural products as antimicrobial agent. **Food Control**, [S. l.], v. 46, p. 412-429, dec. 2014. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095671351400320X>. Access: 29 Jul 2024.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology**, [S. l.], v. 86, n. 6, p. 985-990, 1999.

HUSSAIN, A. I. *et al.* Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S. l.], v. 88, n. 7, p. 1308-1316, 2008.

KEBEDE, T.; GADISA, E.; TUFA, A. Antimicrobial activities evaluation and phytochemical screening of some selected medicinal plants: a possible alternative in the treatment of multidrug-resistant microbes. **PLoS One**, San Francisco, v. 16, n. 3, e0249253, 2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7997013/>. Access: 11 Jul 2024.

LANTMANN, T. L. *et al.* Resistência antimicrobiana da *Salmonella* spp. em suínos: revisão. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 11, n. 2, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i2.25777>. Acesso em: 29 jul. 2024.

LEMOS, G. C. S. *et al.* Bacterial activity of macela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.) against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Maringá, v.3, p.67-72, 2000.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.

LOUGUERCIO, A. P. *et al.* Antibacterial activity of hydro-alcoholic extract leaves of jambolan (*Syzygium cumini* L. Skells). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.2, p.371-376, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000200019>. Acesso em: 29 jul. 2024.

LUSTOSA, A. G. *et al.* Aspectos gerais de infecções por bactérias do gênero *Salmonella*, um problema de saúde pública e animal. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 10, n. 4, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i4.13656>. Acesso em: 29 jul. 2024.

MACHADO, T. F; BRUNO, L.M. **Aplicação de antimicrobianos naturais na conservação de alimentos**. EMBRAPA – Documentos 198, Embrapa Agroindústria Tropical, 17p, 2022.

MACHADO, T. F. *et al.* **Impacto do uso de óleos essenciais na qualidade microbiológica e sensorial da alface**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2020. 20 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1122132/1/BP-201.pdf>. Acesso em: 29 jul. 2024.

MACHADO, T. F. *et al.* **Atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim-limão**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 15 p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/951596/1/ESSENCIALDECAPIMLIMAO.pdf>. Acesso em: 25 maio 2024.

MENDONÇA, A. *et al.* Use of natural antimicrobials of plant origin to improve the microbiological safety of foods. *In: RICKE, S. C. et al. (ed.). Food and feed safety systems and analysis*. London: Academic Press, 2018.

MICHELIN, D. C. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 15, n. 4, p. 316-320, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000400010>. Acesso em: 22 jul. 2024.

MOREIRA, G. N. *et al.* Ocorrência de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos abatidos e comercializados em municípios do estado de Goiás. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 126-130, 2008.

MOURA, C. N.; DANTAS, E. S.; CARVALHO, E. L. **Plantas medicinais: cultivo e uso terapêutico**. Governador Mangaveira: Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Baiano; Ministério da Educação, 2021.

NADER, T. T. *et al.* Avaliação *in vitro* da eficácia de extratos de plantas medicinais do cerrado frente a *Staphylococcus aureus* isolado de diferentes fontes de propriedades leiteiras. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 3 p. 429-433, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aib/a/8Vxt35BSNB8xvv4Kvm6ctdB/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 05 jul. 2024.

NEGI, P. S.; JAYAPRAKASHA, G. K. Antioxidant and antibacterial activities of *Punica granatum* peel extracts. **Journal of Food Science**, [S. l.], v. 68, n. 4, p. 1473-1477, 2003.

OLIVEIRA, F. **Fundamentos de farmacobotânica e morfologia vegetal**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2009.

OSTROSKY, E. A. *et al.* Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200026>.

PEREIRA, M. C. *et al.* Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 731-738, 2006. Acesso em: 05 jul. 2024.

PERIASAMY, V. S.; ATHINARAYANAN, J.; ALSHATWI, A. A. Anticancer activity of an ultrasonic nanoemulsion formulation of *Nigella sativa* L. essential oil on human breast cancer cells. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S. l.], v. 31, p. 449- 455, 2016. doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.01.035. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417716300359?via%3Dihub>. Access: 17 Jul. 2024.

PESSINI, G. L. *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 13, supl. 1, p. 21-24, 2003.

QUINN, P. J. Agentes antimicrobianos. *In: MICROBIOLOGIA veterinária e doenças infecciosas*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 6, p. 42-49.

RAVEN, P. H. **Biologia vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

SABOIA, C. S. *et al.* Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e do extrato bruto do capim limão (*Cymbopogon citratus*). **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 11, n. 7, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/download/30064/25964/344800>. Acesso em: 10 jul. 2024.

SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. Taninos. *In: SIMÕES, C. M. O. et al. (org). Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. Porto Alegre; Florianópolis: UFRGS; UFSC, 2003. p.615- 683.

SANTOS, R. L. *et al.* Hematologic and sérum biochemical changes in *Salmonella* ser *Typhimurium*-infected calves. **American Journal of Veterinary Research**, [S. l.], v.63, n.8, p. 1145-1150, 2002.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELENA, C. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.35, p.275-280, 2004. Available from: <https://www.scielo.br/j/bjm/a/jCnKGdthXfczSBdb45WL4qP/?lang=en>. Access: 12 Jul. 2024.

SIGARINI, C. O. *et al.* Avaliação bacteriológica da carne bovina desossada, em estabelecimentos comerciais do município de Cuiabá, MT, parte I. **Higiene Alimentar**, [S. l.], v. 20, n.139, p. 89-97, 2006.

SILVA, A. J. H. *et al.* *Salmonella* spp. Um agente patogênico veiculado em alimentos. Climate Change 2013. **The Physical Science Basis**, v. 53, n. 9, p. 1–30. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>. Acesso em: 28 ago. 2024.

SILVA, M. S. A. *et al.* Atividade antimicrobiana e antiaderente *in vitro* do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. sobre bactérias orais planctônicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 18, n. 2 p. 236-240, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200017>. Acesso em: 18 ago. 2024.

SIMONETTI, E. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anômala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Maringá, v. 18, n. 1, p. 9-18, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_005. Acesso em: 22 jul. 2024.

SOUZA, E.L.; LIMA, E.O.; NARAIN, N. Especiarias: Uma alternativa para o controle de qualidade sanitária e de vida útil de alimentos, frente às novas perspectivas da indústria alimentícia. **Higiene Alimentar**, [S. l.], v.17, p. 38-42, 2003.

TEIXEIRA, B. *et al.* Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 587-595, 2013.

TORRIANI, A. L. T.; OLIVEIRA, L. *Ruta graveolens* L. (arruda). In: O CONHECIMENTO e suas particularidades. Curitiba: [s. n.], 2006.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia**. 10.ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

VAOU, N. *et al.* Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: a review study on challenges and future perspectives. **Microorganisms**, Basel, v. 9, n. 10, p. 2041. Available from: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102041>. Access: 11 Jul 2024.

VARGAS, A. C. de *et al.* Atividade antimicrobiana “in vitro” de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 159-163, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782004000100024>. Acesso em: 22 jul. 2024.

VORAVUTHIKUNCHAI, S. P. *et al.* Inhibitory effects of active compounds from *Punica granatum* pericarp on verocytotoxin production by enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. **Journal of Health Science**, [S. l.], v.51, n.5, p. 590-596, 2005. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jhs/51/5/51_5_590/_pdf. Access: 22 Jul. 2024.

VOSS-RECH, D. *et al.* Antibacterial activity of vegetal extracts against serovars of *Salmonella*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 2, p. 314-320, 2011.

WIEST, J. M. *et al.* Inibição e inativação in vitro de *Salmonella* spp. com extratos de plantas com indicativo etnográfico medicinal ou condimentar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 1, p. 119-127, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352009000100017>. Acesso em: 22 jul. 2024.

WRAY, C.; DAVIES, R. H. Salmonella infections in cattle. In: WRAY, C; WRAY, A. **Salmonella in domestic animals**. Oxon: CABI Publishing, 2000. p.169-191.