

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**ALESSANDRA DOS SANTOS GODOY**

**AÇÃO ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE OLÍBANO (*Boswellia carterii*) E WINTERGREEN (*Gaultheria procumbens*) SOBRE DIFERENTES SOROVARES DE *Salmonella* SPP**

**TOLEDO - PR**

**2024**

**ALESSANDRA DOS SANTOS GODOY**

**AÇÃO ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE OLÍBANO (*Boswellia carterii*) E WINTERGREEN (*Gaultheira procumbens*) SOBRE DIFERENTES SOROVARES DE *Salmonella* SPP**

**ANTIMICROBIAN ACTION OF THE ESSENTIAL OILS OF OLIVAN (*Boswellia carterii*) AND WINTERGREEN (*Gaultheira procumbens*) ON DIFFERENT SOROVARS OF *Salmonella* SPP**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Prof. Dr. Cleverson Busso.

**TOLEDO - PR**

**2024**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**ALESSANDRA DOS SANTOS GODOY**

**AÇÃO ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE OLÍBANO (*Boswellia carterii*) E WINTERGREEN (*Gaultheira procumbens*) SOBRE DIFERENTES SOROVARIES DE *Salmonella* SPP**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 04 de julho de 2024

---

Priscila Vaz de Arruda  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Renato Eising  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Cleverson Busso  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**TOLEDO - PR**

**2024**

Dedico este trabalho à minha família, pela oportunidade de ter chegado até aqui. Agradeço pelo apoio incondicional, pelo incentivo constante e por acreditarem no meu potencial. Este trabalho é resultado do suporte, do carinho e da confiança que vocês me deram ao longo de toda a jornada acadêmica.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me conceder saúde, sabedoria e perseverança ao longo desta jornada acadêmica.

Agradeço a minha família pelo apoio constante e incentivo que foram fundamentais em minha jornada acadêmica. Desde de o início, eles estiveram ao meu lado, oferecendo suporte emocional, encorajamento e as condições necessárias para que eu pudesse me dedicar aos meus estudos. Por tudo isso, sou eternamente grato pela presença de meus pais, irmãos.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Cleverson, pela valiosa orientação, contribuição de seu conhecimento, e experiência compartilhados, que foram fundamentais para o desenvolvimento do meu trabalho.

Agradeço imensamente aos meus amigos e colegas de curso, verdadeiros companheiros de trajetória, que estiveram ao meu lado em cada desafio enfrentado durante esta jornada acadêmica. Em particular, gostaria de expressar minha profunda gratidão à Priscila que ofereceu seu apoio incondicional e valiosa colaboração ao longo deste trabalho. Suas palavras de incentivo e solidariedade foram fundamentais para superar os obstáculos e alcançar este objetivo.

Aos amigos fora da universidade, pelo apoio, compreensão e incentivo constantes, mesmo à distância.

Agradeço aos professores pelo ensino de qualidade, pela disponibilidade em esclarecer dúvidas e pelo estímulo ao pensamento crítico e à busca pelo conhecimento. Também expresso minha gratidão aos técnicos de laboratórios pelo suporte técnico indispensável, contribuindo para a realização das atividades práticas com eficiência e segurança.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, meu sincero agradecimento. Muito obrigado!

“Uma mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original.” – Albert Einstein

## RESUMO

A prática clínica veterinária enfrenta desafios significativos devido à contaminação pela bactéria *Salmonella*, um patógeno que representa um risco à saúde animal e pública. Este trabalho de conclusão de curso aborda a ação antimicrobiana dos óleos essenciais de Olíbano (*Boswellia carterii*) e Wintergreen (*Gaultheria procumbens*) sobre sorovares de *Salmonella* spp de interesse clínico veterinário. A avaliação qualitativa do potencial antimicrobiano dos óleos foi realizada aplicando-se testes de disco-difusão enquanto que os dados quantitativos determinados através da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM). As avaliações foram dos óleos essenciais foram realizadas tanto isoladamente quanto em distintas combinações. Os resultados indicaram que ambos os óleos possuem propriedades antimicrobianas eficazes contra os sorovares testados. No teste de disco-difusão, as zonas de inibição variaram de 6 mm a 12 mm, enquanto os valores de CIM variaram de 125 µL/mL a 625 µL/mL e os de CBM de 25 µL/mL a 125 µL/mL, dependendo do tratamento e da cepa de *Salmonella*. Esses achados sugerem que os óleos essenciais podem ser uma alternativa promissora aos métodos tradicionais de controle de patógenos na prática clínica veterinária, contribuindo para a saúde animal e a redução do uso de antibióticos.

Palavras-chave: Concentração Inibitória Mínima; Concentração Bactericida Mínima; Atividade antimicrobiana; Zonas de inibição.

## ABSTRACT

Veterinary clinical practice faces significant challenges due to contamination by *Salmonella* bacteria, a pathogen that poses a risk to animal and public health. This end-of-course study addresses the antimicrobial action of Frankincense (*Boswellia carterii*) and Wintergreen (*Gaultheria procumbens*) essential oils on *Salmonella* spp serovars of veterinary clinical interest. The qualitative assessment of the antimicrobial potential of the oils was carried out using disc diffusion tests, while the quantitative data was determined using the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC). The essential oils were evaluated both on their own and in different combinations. The results indicated that both oils have effective antimicrobial properties against the serovars tested. In the disc diffusion test, the inhibition zones ranged from 6 mm to 12 mm, while the MIC values ranged from 125  $\mu\text{L}/\text{mL}$  to 625  $\mu\text{L}/\text{mL}$  and the CBM values from 25  $\mu\text{L}/\text{mL}$  to 125  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , depending on the treatment and the *Salmonella* strain. These findings suggest that essential oils may be a promising alternative to traditional pathogen control methods in veterinary clinical practice, contributing to animal health and reducing the use of antibiotics.

Keywords: Minimum Inhibitory Concentration; Minimum Bactericidal Concentration; Antimicrobial activity; Zones of inhibition.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ilustração da bactéria <i>Salmonella typhimurium</i> .....	17
Figura 2 - Casca da árvore <i>Boswellia carterii</i> .....	29
Figura 3 - Planta da <i>Gaultheria procumbens</i> .....	31
Figura 4 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do Óleo Essencial de Olíbano ( <i>Boswellia carterii</i> ) em <i>S. Derby</i> e <i>S. Agona</i> . COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.....	37
Figura 5 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Olíbano ( <i>Boswellia carterii</i> ) em <i>S. Panama</i> e <i>S. Choleraesuis</i> . COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.....	38
Figura 6 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Olíbano ( <i>Boswellia carterii</i> ) em <i>S. Heidelberg</i> e <i>S. Infantis</i> . COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.....	38
Figura 7 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Olíbano ( <i>Boswellia carterii</i> ) em <i>S. Typhimurium</i> e <i>S. Senftenberg</i> . COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.....	38
Figura 8 - Concentração Bactericidade Mínima (CBM) do OE de Olíbano ( <i>Boswellia carterii</i> ) nas sorovares de <i>S. spp.</i> .....	39
Figura 9 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Wintergren ( <i>Gaultheria procumbens</i> ) em <i>S. Derby</i> e <i>S. Agona</i> . COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.....	42
Figura 10 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Wintergren ( <i>Gaultheria procumbens</i> ) em <i>S. Panama</i> e <i>S. Choleraesuis</i> . COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.....	42
Figura 11 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Wintergren ( <i>Gaultheria procumbens</i> ) em <i>S. Infantis</i> e <i>S. Heidelberg</i> . COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.....	43
Figura 12 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Wintergren ( <i>Gaultheria procumbens</i> ) em <i>S. Typhimurium</i> e <i>S. Seftenmberg</i> . COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.....	43
Figura 13 - Concentração Bactericidade Mínima (CBM) do OE de Wintergreen ( <i>Gautheria procumbens</i> ) sobre sorovares de <i>S. spp.</i> .....	44
Figura 14 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) com o Tratamento 1 em <i>S. Seftenmberg</i> e <i>S Typhimurium</i> . COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.....	47
Figura 15 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) com o Tratamento 2 (50% OE de Olíbano + 50% OE de Wintergreen) em <i>S. Typhimurium</i> e <i>S. Seftenmberg</i> . COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo. ....	47
Figura 16 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) com o Tratamento 3 (25% OE de Olíbano + 75% OE de Wintergreen) em <i>S. Seftenmberg</i> e <i>S. Typhimurium</i> . COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo. ....	48
Figura 17 - Concentração Bactericida Mínima (CBM) com o Tratamento 1 (50% OE de Olíbano + 50% OE de Wintergreen) em <i>S. Seftenmberg</i> e <i>S. Typhimurium</i> .....	49
Figura 18 - Concentração Bactericida Mínima (CBM) com o Tratamento 2 (50% OE de Olíbano + 50% OE de Wintergreen) em <i>S. Seftenmberg</i> e <i>S. Typhimurium</i> .....	49
Figura 19 - Concentração Bactericida Mínima (CBM) com o Tratamento 3 (25% OE de Olíbano + 75% OE de Wintergreen) em <i>S. Seftenmberg</i> e <i>S. Typhimurium</i> .....	50

Figura 20 - Teste de Disco de Difusão com o Tratamento 1 (75% óleo essencial de Olíbano + 25% óleo essencial de Wintergreen) contra <i>Salmonella Senftenberg</i> . Onde "B" representa o branco. ....	52
Figura 21 - Resultado do Teste de Disco de Fusão com o Tratamento 2 com a <i>S. Senftenberg</i> , onde "B" representa o branco. ....	52
Figura 22 - Resultado do Teste de Disco de Fusão com o Tratamento 3 com a <i>S. Senftenberg</i> , onde "B" representa o branco, e os outros três discos com o tratamento. ....	53
Figura 23 - Resultado do Teste de Disco de Fusão com o Tratamento 1 com a <i>S. Typhimurium</i> , onde "B" representa o branco. ....	53
Figura 24 - Resultado do Teste de Disco de Fusão com o Tratamento 2 com a <i>S. Typhimurium</i> , onde "B" representa o branco. ....	54
Figura 25 - Resultado do Teste de Disco de Fusão com o Tratamento 3 com a <i>S. Typhimurium</i> , onde "B" representa o branco. ....	54

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição do OE de <i>Boswellia carterii</i> .....	30
Tabela 2 - Composição do OE de <i>Gaultheria procumbens</i> .....	32
Tabela 3 - Laudo técnico do óleo essencial de Olíbano.....	33
Tabela 4 - Laudo técnico do óleo essencial Wintergreen.....	34
Tabela 5 - Valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) do Óleo Essencial de Olíbano contra Sorovares de <i>Salmonella</i> spp . .....	40
Tabela 6 - Valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) do Óleo Essencial de Wintergreen contra Sorovares de <i>Salmonella</i> spp. ....	45
Tabela 7 - Valores da Concentração Inibitória Mínima.....	50
Tabela 8 - Valores da Concentração Bactericida Mínima .....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CMH	Controle do meio Muller Hinton
COE	Controle do Óleo Essencial
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
MH	Muller Hinton
OE	Óleo Essencial
OEs	Óleos Essenciais
S. spp	Espécies de <i>Salmonella</i>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>16</b>
<b>4</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>17</b>
<b>4.1</b>	<b><i>Salmonella</i> spp .....</b>	<b>17</b>
4.1.1	<i>Salmonella</i> sorovar Agona .....	19
4.1.2	<i>Salmonella</i> sorovar Choleraesuis .....	20
4.1.3	<i>Salmonella</i> sorovar Derby .....	21
4.1.4	<i>Salmonella</i> sorovar Heidelberg .....	22
4.1.5	<i>Salmonella</i> sorovar Infantis .....	23
4.1.6	<i>Salmonella</i> sorovar Panama .....	24
4.1.7	<i>Salmonella</i> sorovar Senftenberg .....	25
4.1.8	<i>Salmonella</i> sorovar Typhimurium .....	26
<b>4.2</b>	<b>Óleos essenciais .....</b>	<b>28</b>
4.2.1	Olíbano ( <i>Boswellia carterii</i> ).....	28
4.2.2	Óleo de Wintergreen ( <i>Gaultheria procumbens</i> ) .....	31
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
<b>5.1</b>	<b>Materiais .....</b>	<b>33</b>
5.1.1	Reagentes e equipamentos.....	33
<u>5.1.1.1</u>	<u>Óleos essenciais .....</u>	<u>33</u>
5.1.2	Cepas utilizadas no trabalho .....	34
<b>5.2</b>	<b>Métodos.....</b>	<b>34</b>
5.2.1	Ensaio de Atividade Antimicrobiana .....	34
5.2.2	Teste de Disco-Difusão <b>Erro! Indicador não definido.</b>	
5.2.3	Teste de microdiluição em caldo para bactérias .....	35
5.2.4	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM).....	35
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>37</b>
<b>6.1</b>	<b>Ensaio de Atividade Antimicrobiana com Óleo de Olíbano.....</b>	<b>37</b>
6.1.1	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM).....	37

6.1.1.1	<u>Análise dos resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima do Óleo de Olíbano.....</u>	<u>39</u>
<b>6.2</b>	<b>Ensaio de Atividade Antimicrobiana com o Óleo de Wintergreen .</b>	<b>42</b>
6.2.1	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM).....	42
6.2.1.1	<u>Análise dos resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CMB) do Óleo de Wintergreen .....</u>	<u>44</u>
<b>6.3</b>	<b>Combinação dos Óleos essenciais.....</b>	<b>46</b>
6.3.1.1	<u>Resultados da Combinação dos Óleos Essenciais no Teste de Disco de Fusão</u>	<u>51</u>
6.3.1.2	<u>Análise Comparativa dos Resultados dos Tratamentos com Óleos Essenciais .....</u>	<u>55</u>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>57</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>58</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de aves e suínos é uma atividade essencial na indústria alimentícia, fornecendo carne e produtos derivados para o consumo humano. No entanto, essa produção enfrenta desafios relacionados à presença de patógenos, como a *Salmonella*. Essas bactérias podem colonizar o trato gastrointestinal de aves e suínos sem causar sintomas aparentes, mas têm o potencial de contaminar os produtos de origem animal, representando um risco para a saúde humana.

A *Salmonella* é um gênero de bactéria que inclui duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica* sendo esta última uma das mais comuns, além disso já foram identificados mais de dois mil sorovares deste gênero (Kich, 2015). Ela pode ser encontrada em animais de produção, como aves e suínos, e a contaminação ocorre principalmente através do contato com fezes contaminadas (Pissetti *et al.*, 2012). A presença de *S. spp* em produtos de origem animal pode resultar em salmonelose, uma doença transmitida por alimentos contaminados.

A salmonelose é uma infecção gastrointestinal que afeta os seres humanos. Os sintomas incluem náuseas, vômitos, diarreia, febre e dores abdominais. Em casos mais graves, a desidratação pode ocorrer, especialmente em grupos vulneráveis, como crianças, idosos e pessoas com sistemas imunológicos comprometidos. A salmonelose pode ter consequências sérias para a saúde, exigindo tratamento médico adequado (Pissetti *et al.*, 2012).

Para combater a *Salmonella* na produção de aves e suínos, são adotados diversos métodos e estratégias. Um dos principais pilares é a implementação de boas práticas de higiene. Isso inclui a limpeza regular e desinfecção de instalações, equipamentos e utensílios utilizados na produção, bem como a promoção de medidas de higiene pessoal dos trabalhadores envolvidos. Além disso, programas de monitoramento e controle são essenciais para identificar a presença de *Salmonella* e adotar medidas corretivas para reduzir a contaminação (Kich, 2015).

A vacinação também é uma ferramenta importante na luta contra a *Salmonella*. Existem vacinas disponíveis para aves e suínos que ajudam a prevenir a infecção e reduzir a disseminação da bactéria nas populações animais. A vacinação adequada pode ser uma estratégia eficaz para diminuir os riscos associados à presença desta bactéria nos produtos finais (Pissetti *et al.*, 2012).

Além dos métodos convencionais, algumas pesquisas têm explorado a atividade antimicrobiana de óleos essenciais para se tornar uma possível abordagem no combate a patógenos, incluindo a *Salmonella* (Alibi *et al.*, 2022). Óleos essenciais demonstraram propriedades antimicrobianas, capazes de inibir o crescimento e a sobrevivência de bactérias. Dois exemplos de óleos essenciais que já foram testados em bactérias são o OE de Olíbano (*Boswellia carterii*) e o OE de Wintergreen (*Gaultheria procumbens*), ambos demonstrando eficácia em estudos contra diversas cepas bacterianas (Borotová *et al.*, 2023; Nóbrega *et al.*, 2023; Valdivieso-Ugarte *et al.*, 2019).

O óleo essencial de Olíbano é extraído da resina da árvore *Boswellia carterii* e possui propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias (Almjlawi *et al.*, 2022). Em uma pesquisa realizada por Borotová *et al.* (2023), o OE de Olíbano (*Boswellia carterii*) demonstrou eficácia contra a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* e também apresentou atividade contra a bactéria Gram-negativa *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis, embora com menor eficácia. No entanto, a pesquisa sobre o uso específico do óleo essencial de Olíbano para combater *Salmonella* na produção de aves e suínos ainda está em estágios iniciais, e mais estudos são necessários para avaliar sua eficácia e segurança nesse contexto (Borotová *et al.*, 2023).

Já o OE de Wintergreen é extraído das folhas da planta *Gaultheria procumbens* e é conhecido por suas propriedades analgésicas e antimicrobianas. Embora estudos tenham demonstrado que o óleo OE de Wintergreen possui atividade antimicrobiana contra diferentes patógenos, incluindo bactérias, não há evidências suficientes que comprovem sua eficácia específica contra alguns sorovares a *Salmonella* na produção de aves e suínos (Ojha *et al.*, 2022).

É importante destacar que o uso de OEs como uma estratégia de combate a patógenos requer estudos adicionais para compreender melhor suas propriedades. Em função da necessidade de mais pesquisas sobre diferentes sorovares, o presente trabalho visa estudar os OEs de Olíbano (*Boswellia carterii*) e de Wintergreen (*Gaultheria procumbens*) e suas propriedades antimicrobianas. Embora esses OEs tenham demonstrado potencial para combater patógenos, incluindo a *Salmonella*, é crucial investigar sua eficácia e segurança específicas na produção de aves e suínos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo analisar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de Olíbano (*Boswellia caterii*) e Wintergreen (*Gaultheira procumbens*) frente a sorovares de *Salmonella* spp de interesse clínico veterinário.

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar qualitativamente a atividade antimicrobiana dos OEs
- Determinar a Concentração Inibitória e Bactericida Mínima (CIM e CBM, respectivamente) de cada óleo essencial em diferentes concentrações sobre sorovares de *Salmonella* spp;
- Avaliar o potencial efeito sinérgico ou antagonístico da combinação de ambos os óleos sobre sorovares de *Salmonella* spp.

### 3 JUSTIFICATIVA

A *Salmonella* spp é um patógeno que prova provocando doenças graves em animais de produção e representando um risco para a saúde pública devido a sua capacidade de ser transmitida através da cadeia alimentar. A resistência antimicrobiana crescente de patógenos intensifica a necessidade de explorar alternativas eficazes para combater estes microrganismos, e os óleos essenciais surgem como uma possível solução devido as suas propriedades naturais.

O uso de óleos essenciais, como Olíbano (*Boswellia carterii*) e Wintergreen (*Gaultheria procumbens*), tem emergido como uma potencial estratégia antimicrobiana para inibir o crescimento de patógenos. No entanto, é fundamental investigar profundamente suas propriedades antimicrobianas, investigando a ação desses óleos essenciais, este estudo pode fornecer dados valiosos que não só contribuiriam para o conhecimento científico, como também poderiam auxiliar nas práticas de manejo e controle de infecções provocados pela *Salmonella*.

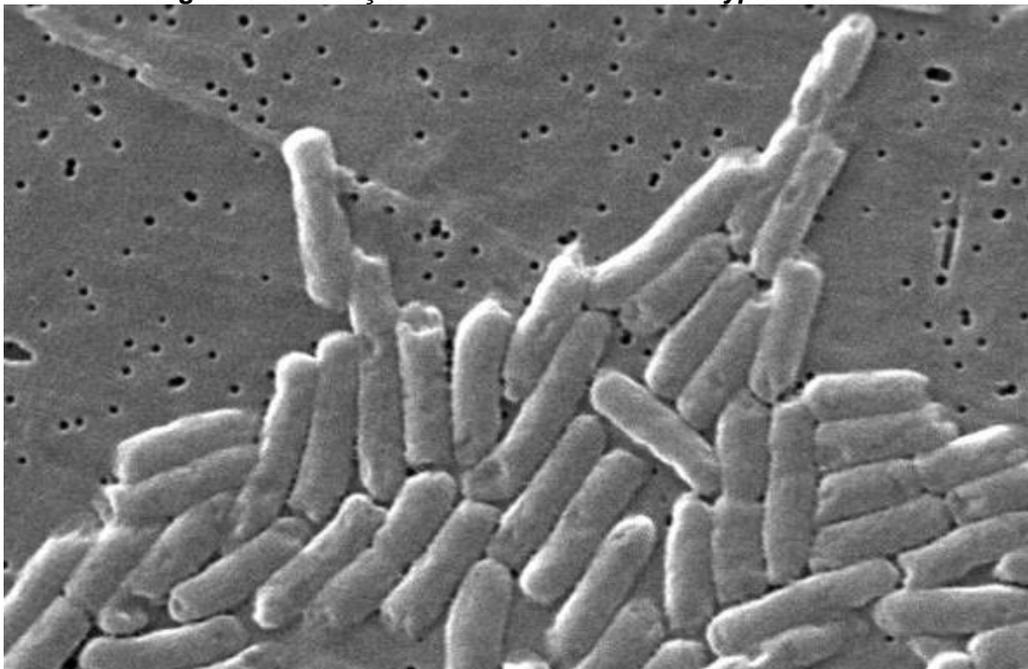
## 4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A *Salmonella* spp. é uma bactéria patógena amplamente reconhecido por sua prevalência e impacto na saúde pública e na produção animal. A resistência crescente aos antimicrobianos convencionais tem incentivado a busca por alternativas eficazes e sustentáveis, como os óleos essenciais. Nesta revisão bibliográfica explora-se a relevância da *Salmonella* spp. e introduz o potencial antimicrobiano dos OEs de Olíbano (*Boswellia carterii*) e Wintergreen (*Gaultheria procumbens*) como uma abordagem promissora para o controle desses patógenos.

### 4.1 *Salmonella* spp

As bactérias do gênero *Salmonella*, pertencentes à família Enterobacteriaceae, são bacilos Gram-negativos e intracelulares facultativos. Com formato de bastonete e medindo aproximadamente de 2 a 3 µm de comprimento por 0,4 a 0,6 µm de largura, conforme mostra a Figura 1, essas bactérias apresentam uma estrutura constituído por um citoesqueleto semelhante ao de actina, e compartilham características comuns com a maioria das Enterobacteriaceae: são anaeróbias móveis, não formam esporos, reduzem nitratos a nitritos, fermentam glicose e são oxidase negativas (Khan *et al*, 2014; Yan *et al*, 2004).

Figura 1 - Ilustração da bactéria *Salmonella typhimurium*.



Fonte: CDC, 2008.

A atualmente, a *Salmonella* é dividida em duas espécies principais, *S. bongori* e *S. enterica*, com base em suas características genômicas e reações bioquímicas. Subdividida em sete subespécies: I, II, IIIa, IIIb, IV, V e VI, a *Salmonella* é classificada de acordo com habitats usuais, critérios bioquímicos e genéticos. Mais de 2.500 sorotipos foram identificados, sendo que *S. bongori* inclui sorotipos da subespécie V, enquanto as subespécies I, II, IIIa, IIIb, IV e VI, pertencem a *S. enterica*, sendo que a maioria dos sorotipos é classificada com esta última. Um sorovar, também conhecido como sorotipo, é uma classificação baseada nas características antigênicas da *Salmonella*, incluindo antígenos somáticos (O), flagelares (H) e, menos frequentemente, capsulares (K). Esses antígenos são moléculas na superfície da bactéria que estimulam uma resposta imunológica no hospedeiro. (Chlebicz *et al.*, 2018; Jajere *et al.*, 2019; Khan *et al.*, 2014).

A capacidade de adaptação ao organismo hospedeiro e a patogenicidade das *Salmonelas* variam conforme o sorotipo, no caso da *S. Typhimurium* e *S. Paratyphi* A, B e C são patogênicos para humanos, no entanto, são assintomáticos em animais, enquanto a *S. Choleraesuis*, encontrado principalmente em porcos, pode causar salmonelose em humanos. Sorotipos comuns como *S. enteritidis* e *S. Typhimurium* causam infecções gastrointestinais tanto em humanos quanto em animais (Chlebicz *et al.*, 2018).

As espécies de *Salmonelas* são amplamente distribuídas na natureza, encontradas no trato intestinal de animais como aves, suínos e bovinos, além de no solo e na água. A transmissão geralmente ocorre através de alimentos contaminados, manuseio inadequado e cozimento insuficiente, afetando produtos como aves, ovos, carnes, peixe e laticínios. Devido à capacidade de causar doenças, *Salmonella* representa uma ameaça significativa à segurança dos produtos pecuários (Koh *et al.*, 2022).

A *Salmonella* é responsável por diferentes tipos de infecções em humanos, sendo a salmonelose a mais comum. A salmonelose não tifoide (NTS) geralmente resulta em gastroenterite, manifestando-se com sintomas como diarreia, febre e cólicas abdominais. Em casos mais graves, a infecção pode se disseminar pelo corpo, necessitando de tratamento médico intensivo. Já a febre tifoide, causada principalmente por *S. Typhimurium*, é uma doença sistêmica grave que pode ser fatal se não tratada adequadamente. Caracteriza-se por febre alta, mal-estar, dor de

cabeça e distúrbios intestinais. A febre tifoide requer tratamento com antibióticos e é mais comum em regiões com condições sanitárias precárias (Crump *et al.*, 2015).

#### 4.1.1 *Salmonella* sorovar Agona

A *Salmonella* Agona é uma sorovar pertencente a *Salmonella* subespécie *enterica*, classificada entre as sorovares de NTS mais frequentemente isoladas na China e nos Estados Unidos. Esse sorovar tem sido associado a surtos de origem alimentar, envolvendo alimentos variados e produtos de origem animal, como fórmulas lácteas infantis, carne, frango e ovos. A *S. Agona* multirresistente tornou-se uma grande ameaça para a saúde pública, destacando a importância do sequenciamento completo do seu genoma para compreender sua patogenicidade e resistência antimicrobiana (Siddique *et al.*, 2022).

Infecções humanas por cepas de *S. Agona*, ocorrem nas áreas onde a carne de frango dessas granjas são comercializadas. Desde a década de 1970, *S. Agona* tornou-se um problema de saúde pública devido aos grandes surtos, e o surgimento de cepas multirresistentes tem sido motivo de preocupação em vários países. A diversidade genética limitada pode refletir uma origem recente, com a *Agona* sendo isolada pela primeira vez em gado em Gana em 1952 e se tornando uma causa comum de salmonelose em animais e humanos (Cummins, *et al.*, 2020; Yokoyama *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2013).

*Salmonella* Agona é uma causa comum de salmonelose em animais e humanos, contaminando gado, vegetais e alimentos processados. Em 2006, *S. Agona* foi classificada entre os sorotipos mais frequentes na América do Norte, Europa e Austrália. Este sorovar foi responsável por surtos em diversos países, incluído Irlanda, Reino Unido, EUA, Israel, Finlândia, França, Alemanha e Austrália. Entre as fontes de contaminação estão galinhas, bovinos, farinha de peixe peruana, cereais secos sem açúcar e fórmulas infantis em pó. A investigação da *S. Agona* oferece a oportunidade de entender as diferenças entre isolados de surtos e esporádicos, além de avaliar a evolução genética ao longo de décadas (Thompson *et al.*, 2017; Zhou *et al.*, 2013).

#### 4.1.2 *Salmonella* sorovar Choleraesuis

A *Salmonella* sorovar Choleraesuis é um patógeno intracelular facultativo altamente adaptado em suínos, responsável pela febre paratifoide, que se manifesta principalmente como enterocolite e sepse. Esse sorovar invade o epitélio intestinal dos suínos, coloniza os linfonodos ileoceais e tem a capacidade única de se disseminar para sítios sistêmicos, resultando em sepse. Um dos órgãos frequentemente afetados é o pulmão, onde a infecção sanguínea por *Salmonella* se manifesta como pneumonia intersticial. O reservatório de *S. Choleraesuis* em suínos é uma preocupação significativa, não apenas pelo seu potencial de causar doenças graves em suínos jovens, mas também pelas implicações para a saúde pública humana (Chiu *et al.*, 2004; Vilela *et al.*, 2022; Zuckermann *et al.*, 2022).

*S. Choleraesuis* pode ocasionalmente infectar humanos, causando doenças graves como gastroenterite aguda, sepse e infecções extraintestinais, especialmente em pacientes imunocomprometidos. Em humanos, a infecção por *S. Choleraesuis* geralmente provoca doença septicêmica com pouco envolvimento do trato intestinal, sendo altamente patogênica. A presença desse sorovar em suínos representa um risco significativo tanto para a saúde animal quanto para a saúde pública (Chiu *et al.*, 2004; Vilela *et al.*, 2022).

Embora seja menos frequente em fontes humanas nos Estados Unidos e na União Europeia, é um sorovar importante em várias nações asiáticas, onde é comumente isolado e identificado como a principal causa de salmonelose. Durante as décadas de 1950 e 1960, foi o sorovar predominante em suínos globalmente, embora sua prevalência tenha diminuído desde então, permanecendo prevalente na América do Norte e Ásia, mas raramente detectado na Austrália e em partes da Europa Ocidental. A detecção ocasional em suínos abatidos na União Europeia e a ausência de isolados na Alemanha indicam uma variação geográfica em sua prevalência (Methner *et al.*, 2018), o que amplia nosso entendimento sobre a distribuição desse sorovar.

O aumento da resistência antimicrobiana em *Salmonella*, é classificada como uma "ameaça séria", se tornando um problema crescente, possivelmente devido ao uso excessivo de antibióticos na terapia humana e animal, bem como ao seu possível uso ilegal como promotores de crescimento na produção animal. Devido ao risco de disseminação de cepas resistentes para humanos, é crucial monitorar ativamente

patógenos como *S. Choleraesuis*, especialmente em países com uma indústria significativa de carne suína, como o Brasil. Essa vigilância é essencial para mitigar o impacto na saúde pública e garantir a segurança dos alimentos e do ambiente (Vilela *et al.*, 2022).

#### 4.1.3 *Salmonella* sorovar Derby

A cepa de *Salmonella enterica* sorovar Derby é uma das variantes mais comuns encontradas em suínos e aves, sendo reconhecida como um agente patogênico zoonótico significativo, frequentemente afetando grupos vulneráveis como lactantes, crianças e idosos. Nos suínos essa bactéria pode infectar de forma assintomática por longos períodos, sendo liberada durante o abate e contribuindo para a alta contaminação em amostras de carne suína (Yuan *et al.*, 2022; Yu *et al.*, 2022).

Além disso, emergiu como um dos sorotipos mais prevalentes em casos de diarreia em crianças de 0 a 3 anos de idade na China. Este sorotipo representou 22% (49 de 221) dos isolados de *Salmonella enterica* recuperados de 3.746 amostras de fezes de pacientes pediátricos ambulatoriais. Além disso, todos os 22 isolados de *Salmonella* Derby resistentes à ciprofloxacina também apresentaram resistência a pelo menos quatro outros antimicrobianos não relacionados a quinolonas, o que representa um desafio importante para o tratamento das infecções causadas por esse sorotipo e desperta maior atenção na indústria suinícola para a erradicação dessa cepa (Cui *et al.*, 2008; Yuan *et al.*, 2022).

O sorotipo enterico *Salmonella* Derby é reconhecido como um patógeno transmitido por alimentos e faz parte de uma série de sorotipos de *Salmonella* não tifoide. Estudos anteriores destacaram sua prevalência em suínos em várias regiões do mundo. Recentemente, observou-se um aumento significativo na incidência de *S. Derby* entre pacientes com diarreia na China, frequentemente apresentando resistência à tetraciclina e sulfisoxazol, o que evidencia a importância de medidas preventivas e de controle para essa cepa. Este sorotipo de *Salmonella* se tornou um dos mais comuns em pacientes com diarreia no país, o que representa um desafio, especialmente considerando que alguns isolados também têm se mostrado resistentes a fluoroquinolonas (Xu *et al.*, 2019).

Além das fontes alimentares, a presença de *S. Derby* em águas residuais também foi identificada, indicando sua alta prevalência nesse meio. Diemert *et al.*

(2020) realizaram o sequenciamento do genoma completo e análises genômicas comparativas, revelando características genéticas distintas dessa cepa em águas residuais. Este estudo destaca o potencial de *S. Derby* como um patógeno subclínico capaz de causar infecções sem sintomas graves. A vigilância de águas residuais pode ser crucial para entender a carga de doenças na comunidade, especialmente na detecção de doenças entéricas subclínicas que podem contribuir substancialmente para as taxas gerais de doenças (Diemert *et al.*, 2020).

#### 4.1.4 *Salmonella* sorovar Heidelberg

A *S. Heidelberg*, desde a década de 1990, tem sido identificada em bandos de aves em diversos países, com uma alta prevalência ligada à contaminação de alimentos avícolas e transmissão para humanos. Este sorovar é capaz de causar salmonelose invasiva e infecções septicêmicas em humanos. Além disso, isolados de *S. Heidelberg* têm mostrado resistência a vários antibióticos, e cepas multirresistentes foram relatadas em granjas avícolas e carcaças de frango em diferentes países nas últimas três décadas (Kipper *et al.*, 2021).

*S. Heidelberg* está entre os sorovares mais frequentemente encontrados em aves de capoeira. Em contraste com outros sorovares de *Salmonella* que causam gastroenterite leve a moderada e autolimitada, *S. Heidelberg* tende a causar infecções invasivas resultantes do consumo de carne, aves, ovos ou produtos à base de ovos contaminados. Embora tipicamente associada a gastroenterite autolimitada, essa infecção pode evoluir para uma forma invasiva em pacientes vulneráveis, como crianças pequenas, idosos e imunocomprometidos, necessitando de tratamento com antibióticos (Berg *et al.*, 2019; Folley *et al.*, 2011).

Heidelberg está entre os dez principais sorovares causadores de salmonelose nos Estados Unidos e é o terceiro sorovar mais frequentemente isolado no Canadá. No Brasil, *S. Heidelberg* tem sido o sorovar mais frequentemente isolado em frangos de corte e produtos avícolas destinados ao consumo humano, nas últimas duas décadas (Antony *et al.*, 2018; Kipper *et al.*, 2021).

Um estudo conduzido por Melo *et al.* sobre a caracterização molecular e habilidades de sobrevivência de cepas de *Salmonella* Heidelberg de origem avícola no Brasil oferece informações significativas para a compreensão da virulência, resistência e formação de biofilmes por esse importante patógeno na indústria avícola.

A pesquisa destaca a plasticidade genotípica das cepas de *S. Heidelberg*, evidenciando sua capacidade de persistir e se adaptar em ambientes desafiadores, o que ressalta a importância de medidas rigorosas de controle para mitigar os riscos à segurança alimentar e à saúde pública. Esses achados reforçam a necessidade de monitoramento constante e a implementação de práticas eficazes na produção avícola para prevenir a disseminação de cepas patogênicas, contribuindo assim para a promoção da segurança dos alimentos e o bem-estar da população (Melo *et al.*, 2021).

#### 4.1.5 *Salmonella* sorovar Infantis

A *Salmonella enterica* sorovar Infantis (*S. Infantis*) tem despertado crescente atenção como um patógeno emergente com implicações significativas na saúde pública e na indústria avícola. Geralmente associada a aves, a *S. Infantis* se destaca como o sorovar mais prevalente em fontes animais e alimentares, especialmente frangos de corte, e se tornou um importante agente de salmonelose em humanos (STEPHEN *et al.*, 2022).

Diversos estudos genômicos revelam a heterogeneidade da população de *S. Infantis*, composta por diferentes clones e agrupamentos. Essa diversidade genética se reflete nos perfis de resistência aos antibióticos, com cepas multirresistentes representando uma grande preocupação. A presença do megaplasmídeo conjugativo pESI (Plasmídeo E *Salmonella* Infantis Fusão) confere à bactéria resistência a múltiplos antimicrobianos e virulência, sem comprometer a hospedeira (Drauch *et al.*, 2021).

A *S. Infantis* foi identificada em diversos locais ao redor do mundo, incluindo granjas avícolas na Europa e Japão, centros de reabilitação na Alemanha, e em países como Israel, Hungria, EUA, América Latina, Japão, Rússia e Itália. Este sorovar representa uma parcela significativa das cepas de *Salmonella* multirresistentes na indústria avícola, e as cepas frequentemente associadas ao megaplasmídeo pESI são motivo de preocupação global tanto para a indústria quanto para a medicina humana (Drauch *et al.* 2021; JOVČIĆ *et al.* 2020).

O estudo de Shahada *et al.* (2006) investigou a resistência antimicrobiana em cepas de *S. Infantis* isoladas de aves em Kagoshima, Japão. Avaliando a suscetibilidade a diversos antibióticos, o estudo identificou altos níveis de resistência

em várias cepas, reforçando a importância da vigilância da resistência antimicrobiana e do uso responsável de antimicrobianos em animais de produção de alimentos.

Já Drauch *et al.* (2020) realizaram um estudo *in vitro* para avaliar a eficácia bacteriostática e bactericida de dez desinfetantes comerciais contra sete isolados de campo de *S. Infantis*. Os resultados revelaram diferenças significativas na eficácia dos produtos testados, com compostos à base de aldeídos e amônio quaternário demonstrando maior eficiência, seguidos por peróxido, cresol e alquilaminas. A pesquisa ressaltou a complexidade da erradicação da *S. Infantis* em lotes avícolas e a importância de medidas adequadas de limpeza e desinfecção para controlar essa cepa prevalente em aves, contribuindo assim para a segurança alimentar e a saúde pública.

#### 4.1.6 *Salmonella* sorovar Panama

A *Salmonella enterica* serovar Panama (*S. Panama*) emerge como uma cepa de *Salmonella* não tifoide (iNTS) com crescente relevância na saúde pública global. Sua capacidade de causar infecções extraintestinais graves, como septicemia, meningite e osteomielite, a distingue de outras salmonelas gastrointestinais (Feng *et al.*, 2022; Pulford *et al.* 2019; Yao *et al.* 2016).

A *S. Panama* apresenta uma distribuição geográfica ampla, com surtos relatados em diversas regiões do mundo. Nos territórios franceses da América, como Martinica, Guiana Francesa e Guadalupe, a cepa se destaca como uma das principais causas de salmonelose invasiva, especialmente em crianças. Na América Latina, surtos significativos foram documentados, como o ocorrido no Chile nos anos 1970. Em outras regiões, como Ásia, Europa e Estados Unidos, a *S. Panama* permanece como uma preocupação de saúde pública, frequentemente associada à indústria suína e a surtos hospitalares (Pulford *et al.* 2019).

A *S. Panama* se destaca por sua capacidade de causar infecções invasivas, particularmente em crianças, onde pode levar a complicações graves como meningite. Essa característica é atribuída à sua maior capacidade de invadir células epiteliais e sobreviver dentro de macrófagos, em comparação com outras salmonelas. Estudos genômicos revelaram a presença de diferentes clones de *S. Panama*, evidenciando a importância da vigilância genômica para entender sua epidemiologia e virulência (Pulford *et al.* 2019; Yao *et al.* 2016).

A transmissão da *S. Panama* ocorre através de diversas fontes, incluindo alimentos contaminados (especialmente produtos derivados de porco), água e contato com animais, como répteis e aves selvagens. Estudos demonstram que répteis selvagens representam um reservatório natural para a *S. Panama*, facilitando sua disseminação em áreas com presença desses animais (Pulford *et al.* 2019).

A *S. Panama* representa uma proporção significativa dos casos de salmonelose, como na América Latina, onde era responsável por 3,5 casos confirmados por 100.000 pessoas na década de 2000. Surtos históricos, como o do Chile em 1975, demonstram seu potencial de disseminação rápida, afetando principalmente crianças. Na Ásia, a cepa se destacou pela alta taxa de bacteremia em crianças menores de 5 anos em Taiwan. A presença histórica da *S. Panama* na Europa e nos Estados Unidos, frequentemente associada à indústria suína e a surtos alimentares, reforça sua importância como problema de saúde pública global (Yao *et al.* 2016).

Um estudo em Taiwan entre 2015 e 2016 investigou um surto de *S. Panama*, caracterizando clinicamente as infecções e comparando-as com *S. Typhimurium*. A análise genômica revelou três clones distintos, com dois principais responsáveis pelo surto. Experimentos *in vitro* confirmaram a maior capacidade de penetração em células epiteliais e sobrevivência em macrófagos da *S. Panama* em comparação com *S. Typhimurium*. O estudo reforça a necessidade de vigilância genômica e medidas de saúde pública para prevenir surtos e mitigar os impactos da *S. Panama*, especialmente em crianças (Feng *et al.*, 2022).

#### 4.1.7 *Salmonella* sorovar Senftenberg

A *Salmonella* Senftenberg (*S. Senftenberg*) é um sorovar da *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, um patógeno bacteriano comumente encontrado em animais e alimentos em todo o mundo. A *S. Senftenberg* foi associada a surtos de salmonelose em humanos, ressaltando sua importância em termos de saúde pública. Sua capacidade de persistir em ambientes desafiadores, como moinhos de ração e instalações avícolas, mesmo após procedimentos de limpeza e desinfecção, a torna um alvo de preocupação crescente em termos de saúde pública e segurança alimentar (Pedersen *et al.*, 2008; Srednik *et al.*, 2022).

A *S. Senftenberg* tem despertado preocupações devido à sua alta prevalência de resistência antimicrobiana. Uma proporção significativa de isolados demonstra

resistência a diversos antimicrobianos, incluindo aminoglicosídeos, penicilinas, sulfonamidas e tetraciclina. Essa resistência é atribuída à presença de genes de resistência antimicrobiana, plasmídeos e integrons, que facilitam a aquisição e disseminação de mecanismos de resistência (Srednik *et al.*, 2022).

A *S. Senftenberg* também demonstra alta capacidade de persistir em ambientes desafiadores, como moinhos de ração e instalações avícolas. Essa persistência é atribuída à sua resistência à dessecação, que permite que a bactéria sobreviva por períodos prolongados em condições de baixa umidade. Essa capacidade de persistência contribui para a disseminação da *S. Senftenberg* e dificulta o controle da contaminação (Pedersen *et al.*, 2008).

Estudos recentes demonstraram que a *S. Senftenberg* pode se adaptar à presença de biocidas contendo triamina. A exposição a concentrações sub-inibitórias do biocida não resultou em variantes resistentes a antibióticos, mas alterou a suscetibilidade da bactéria ao soro humano normal (NHS). Essa adaptação pode ter implicações no tratamento de infecções por *S. Senftenberg* (Futoma-Kołoch *et al.*, 2017).

A compreensão dos mecanismos de resistência e persistência da *S. Senftenberg* é crucial para o desenvolvimento de estratégias eficazes de controle da contaminação. Estudos aprofundados sobre esses mecanismos são necessários para identificar vulnerabilidades da bactéria que possam ser exploradas para o desenvolvimento de novos métodos de controle (Pedersen *et al.*, 2008).

A *S. Senftenberg* é um patógeno persistente e multirresistente que representa um desafio significativo para a saúde pública e a segurança alimentar. É fundamental continuar a investigar os mecanismos de resistência e persistência dessa bactéria para desenvolver estratégias eficazes de controle da contaminação.

#### 4.1.8 *Salmonella* sorovar Typhimurium

A *Salmonella* Typhimurium é uma bactéria gram-negativa com flagelos, comumente encontrada em aves, criação de animais e diversos alimentos em todo o mundo, exercendo um impacto significativo na segurança alimentar e na saúde pública. A patogenicidade dessa bactéria está intimamente ligada à sua capacidade de locomoção e formação de membrana, sendo essenciais para a colonização e infecção sistêmica em hospedeiros animais e humanos. Componentes da membrana

externa, como proteínas e lipopolissacarídeos, juntamente com pili e flagelos, desempenham papéis importantes nesses processos (Niu *et al.* 2020).

Esta bactéria encontra muitos ambientes variados e extremos que induzem uma resposta bacteriana adaptativa para lidar com o estresse, como pH extremo, alta concentração de sal e intermediários reativos de oxigênio. Essa tolerância adquirida pode estar associada a várias alterações fisiológicas celulares, como a aquisição de plasmídeos, mutações, síntese de proteínas de estresse e modificação da composição da membrana lipídica (Luz *et al.*, 2012)

O sorovar Typhimurium de *Salmonella enterica* é um dos principais patógenos de origem alimentar de interesse público em relação à segurança alimentar, sendo responsável por surtos de gastroenterite de diferentes gravidades (Luz *et al.*, 2012). O estudo realizado por Peng *et al.* (2018) investigou as alterações na resistência a antibióticos de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium sob pressão ambiental, com ênfase no impacto do uso de antibióticos sintéticos na produção animal. A pesquisa analisou a evolução da resistência em isolados de *S. Typhimurium* em um ambiente simulado de fazenda, utilizando análises genômicas por meio de polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) para comparar a relação entre isolados multirresistentes e cepas patogênicas (Peng *et al.*, 2018).

Os resultados destacaram a manutenção da resistência a certos antibióticos mesmo em ambientes sem pressão antibiótica, além de evidenciar a associação entre a pressão de tetraciclina, fornecendo importantes informações sobre os mecanismos subjacentes à resistência antimicrobiana em ambientes agrícolas (Peng *et al.*, 2018). Segundo um estudo realizado por Dong *et al.* (2020), a resistência antimicrobiana em isolados de *Salmonella Typhimurium* foi investigada na província de Henan, China, durante o período de 2006 a 2015. Os pesquisadores analisaram 147 isolados utilizando testes de suscetibilidade antimicrobiana, sequenciamento genético e métodos de tipagem molecular. Os resultados demonstraram altas taxas de resistência a ciprofloxacina, cefalosporinas e azitromicina, com uma proporção significativa dos isolados apresentando resistência a múltiplos medicamentos (Dong *et al.*; 2020).

Essas descobertas ressaltam a importância da vigilância contínua da resistência antimicrobiana e da implementação de medidas eficazes de controle de infecção para enfrentar a evolução dos padrões de resistência em cepas de *Salmonella Typhimurium* na região (Dong *et al.* 2020). A compreensão das características de *S. Typhimurium*

e os mecanismos subjacentes à sua resistência são cruciais para o desenvolvimento de estratégias eficazes de controle e prevenção de infecções, destacando a necessidade de pesquisas contínuas e de uma abordagem integrada para a gestão da saúde pública (Luz *et al.* 2012; Niu *et al.* 2020).

## 4.2 Óleos essenciais

Nos últimos anos, a resistência microbiana aos antibióticos se tornou um problema de saúde pública global, exigindo a busca por alternativas eficazes no combate a patógenos. Nesse contexto, os óleos essenciais (OEs) despontam como uma promessa promissora, devido à sua natureza complexa e à presença de compostos bioativos com propriedades antimicrobianas (Sakkas; Papadopoulou, 2017).

O OEs são combinações complexas de compostos voláteis gerados por plantas aromáticas como metabólitos secundários, ricos em monoterpenos, sesquiterpenos e outras moléculas com diversas propriedades benéficas. Extraídos por métodos como a destilação a vapor e a extração com solventes, esses compostos encontram-se em diversas partes das plantas, como folhas, flores, frutos e raízes (Preedy, 2015; Valdivieso-ugarte *et al.*, 2019).

Além do aroma marcante, os OEs se destacam por suas propriedades antissépticas, bactericidas, virucidas, fungicidas e medicinais. Essa gama de propriedades se deve principalmente à presença de terpenóides, que conferem aos OEs a capacidade de combater microrganismos e promover a saúde humana e animal (Bakkali *et al.*, 2008; Valdivieso-ugarte *et al.*, 2019).

No âmbito da medicina veterinária, os OEs de Olíbano (*Boswellia carterii*) e Wintergreen (*Gaultheria procumbens*) se configuram como alternativas promissoras no combate à *Salmonella* spp., bactéria responsável por diversas doenças em animais.

### 4.2.1 Olíbano (*Boswellia carterii*)

As plantas do gênero *Boswellia* que pertencem à família Burseraceae são arbustos ou árvores que possuem cascas externas que descascam em flocos de pergaminho, apresentando uma casca interna esverdeada, assim como possuem uma resina aromática aquosa e uma madeira látex leitoso, conforme mostra a Figura 2

(Hidayat, 2013). Estas árvores são encontradas em áreas costeiras do nordeste da África, na península árabe e no subcontinente indiano (Di Stefano *et al*, 2020).

**Figura 2 - Casca da árvore *Boswellia carterii*.**



**Fonte: AZAMBUJA (2019).**

As plantas desta espécie quando sofrem incisões em sua casca exalam uma resina, conhecida como incenso ou olíbano, de cor amarela pálida a vermelho (Baeten, 2014). Estas resinas são as mais conhecidas de goma aromática e são utilizadas em todo o mundo como incenso em cerimônias religiosas, assim como também para uso medicinal (Zhang, 2013).

O gênero *Boswellia* é formado por mais de dez espécies, como a *B. carterii*, *B. serrata*, *B. papyrifera*, *B. frereana*, *B. rivaie*, *B. bhau-da jiana*, *B. neglecta*, *B. globosa*, *B. pirottae*, *B. ogadensis* e *B. microphilla*, sendo a grande maioria dessas espécies capazes de secretar resina de goma através da casca. Em particular, a resina de goma produzida pela casca da *Boswellia carterii* é relatada e utilizada como olíbano na medicina tradicional chinesa (Guo *et al.*, 2021).

A *B. carterii* é uma substância branco-amarelada ou amarela-alaranjado extraída das estacas dos caules das plantas, sendo coletada por gotejamento após secagem das plantas (Almjalawi *et al.*, 2022).

O óleo da *B. carterii* é composto principalmente por monoterpenos, sesquiterpenos e compostos ésteres (Huang *et al.*, 2022). Estes compostos possuem

propriedades anti-inflamatórias, citotóxicas, hepatoprotetor, antibacteriano e antifúngico (Sun *et al.*, 2020).

Segundo um estudo feito por Borotova *et al.* (2023), a análise da composição química do OE de *Boswellia carterii*, identificou-se que este óleo essencial é predominantemente formado por hidrocarbonetos monoterpênicos, que constituem 79,3% do total. Os principais monoterpênicos detectados foram  $\alpha$ -pineno (37,0%) e  $\alpha$ -limoneno (19,8%), seguidos por p-cimeno (6,3%),  $\alpha$ -tujeno (4,2%), sabineno (4,1%) e  $\beta$ -mirceno (2,6%). Os hidrocarbonetos sesquiterpênicos representaram 10,4% do total, com  $\beta$ -elemeno (2,2%) e (E)-cariofileno (2,5%) em quantidades significativas, conforme mostra a tabela 1.

**Tabela 1 – Composição do OE de *Boswellia carterii*.**

Composto	%
$\alpha$ -pineno	37,0
$\alpha$ -limoneno	19,8
p-cimeno	6,3
$\alpha$ -tujeno	4,2
sabineno	4,1
$\beta$ -mirceno	2,6
$\beta$ -elemeno	2,2
(E)-cariofileno	2,5

**Fonte: Adaptado Borotová *et al.* (2023), (2024).**

Os compostos mencionados acima, podem estar associados à atividade antimicrobiana devido às suas propriedades intrínsecas, como a capacidade de interagir com componentes celulares dos microrganismos. O  $\alpha$ -pineno, pode potencializar a atividade antimicrobiana quando combinado com outras substâncias, sugerindo sinergismo. Por outro lado, o  $\alpha$ -limoneno possui uma atividade antimicrobiana mais eficaz, indicando que suas características específicas podem ser responsáveis pela atividade antimicrobiana do OE *Boswellia carterii* (Borotová *et al.*, 2024).

#### 4.2.2 Óleo de Wintergreen (*Gaultheria procumbens*)

As plantas do gênero *Gaultheria* pertencem à família Ericaceae abrange várias espécies que são encontradas na Ásia e na América do Norte, caracterizando-se pelo seu crescimento como arbustos perenes, Figura 3 (Vergnes *et al.*, 2014).

**Figura 3 - Planta da *Gaultheria procumbens*.**



**Fonte: Plantnet (2023)**

Através destas plantas são obtidos o óleo verde de inverno que têm como principal componente o salicilato de metila, que possui semelhanças estruturais com a aspirina e apresenta propriedades antibacterianas, analgésicas e anti-inflamatórias. Este óleo é mais comum de ser encontrado nas espécies *Gaultheria procumbens* e *G. fragrantissima* (Luo *et al.*, 2021).

A espécie *G. procumbens* é um arbusto perene, nativo das regiões orientais da América do Norte (Nikolić *et al.*, 2013). Na medicina tradicional, diversas partes desta espécie são utilizadas no tratamento de doenças inflamatórias, especialmente artrite reumatóide, dores e inflamações, traqueíte crônica, resfriados e prostatite aguda e crônica (MicheL, 2014).

Acredita-se que as propriedades analgésicas e anti-inflamatórias dessas plantas sejam atribuídas aos derivados do ácido salicílico, principalmente o salicilato de metila, que atua por meio de diversos mecanismos, incluindo efeitos antioxidantes.

Além do salicilato de metila, que compõe 96,90% do óleo, já foram identificados outros componentes significativos. O segundo componente mais abundante é o hidrocarboneto monoterpênico cíclico limoneno, que representa 2,17% da composição do óleo. Os demais componentes incluem hidrocarbonetos monoterpênicos cíclicos, como  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -pineno, sabineno e mirceno, que juntos correspondem a 0,64% do óleo. Monoterpenos oxigenados, como fenchona e mentona, também estão presentes, constituindo 0,29% da composição total, conforme mostra tabela 2 (NIKOLIĆ *et al.*, 2013).

**Tabela 2 - Composição do OE de *Gaultheria procumbens*.**

Composto	%
$\alpha$ -pineno	37,0
$\alpha$ -limoneno	19,8
p-cimeno	6,3
$\alpha$ -tujeno	4,2
sabineno	4,1
$\beta$ -mirceno	2,6
$\beta$ -elemeno	2,2
(E)-cariofileno	2,5

Fonte: Adaptado Nikolić *et al.* (2013), (2024).

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

As pesquisas foram desenvolvidas no laboratório de Microbiologia Geral da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), do campus de Toledo, Paraná.

### 5.1 Materiais

#### 5.1.1 Reagentes e equipamentos

Foram utilizados os seguintes reagentes e equipamentos no desenvolvimento do experimento: meio de cultura Mueller Hinton (MH), o emulsificante Tween 80, Resazurina, estufa, shaker, espectrofotômetro, placas de ELISA, placas Petri, ponteiras, tubos tipo eppendorf e frascos tipo Erlenmeyer. Os óleos essenciais utilizados foram: o Olíbano (*Boswellia carterii*) e Wintergreen (*Gaultheria procumbens*).

##### 5.1.1.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais utilizados foram adquiridos comercialmente pela empresa Ferquima Indústria e Comércio LTDA, sediada em Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil.

O óleo de Olíbano é de origem da Somália e a sua extração ocorre pelo processo de Destilação a vapor da resina. A tabela 3 apresenta informações contidos no laudo técnico do óleo essência Olíbano fornecido pela empresa Ferquima Indústria e Comércio LTDA.

**Tabela 3 - Laudo técnico do óleo essencial de Olíbano.**

Itens Controlados	Resultados	Especificações
Aparência	Líquido Límpido	Líquido Límpido
Cor	Amarelo Palha	Amarelo palha a escuro
Impurezas	Isento	Isento
Odor	Característico	Característico
Densidade (20°C)	0,8741	0,860 – 0,890
Índice de Refração (20°C)	1,4746	1,465 – 1,485

**Fonte: Adaptado de Ferquima (2024).**

O óleo de Wintergreen é de origem chinesa e a sua extração ocorre pelo processo de Destilação a vapor das folhas. A tabela 4 apresenta informações contidos no laudo técnico do óleo essência Wintergreen fornecido pela empresa Ferquima Indústria e Comércio LTDA.

**Tabela 4 - Laudo técnico do óleo essencial Wintergreen.**

Itens Controlados	Resultados	Especificações
Aparência	Líquido Límpido	Líquido Límpido
Cor	Incolor	Incolor a Avermelhado
Impurezas	Isento	Isento
Odor	Doce, fresco	Doce, fresco
Densidade (20°C)	1,1830	1,180 – 1,185
Índice de Refração (20°C)	1,5370	1,535 – 1,540

**Fonte: Adaptado de Ferquima (2024).**

### 5.1.2 Cepas utilizadas no trabalho

As cepas que foram utilizadas neste experimento foram cedidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) suínos e aves, localizada na cidade de Concórdia, Santa Catarina. Foram obtidas oito cepas bacterianas de *Salmonella* spp e seus respectivos sorovares, sendo eles: Agona, Choleraesuis, Derby, Heidelberg, Infantis, Panama, Senftenberg e Typhimurium.

## 5.2 Métodos

### 5.2.1 Ensaios de Atividade Antimicrobiana

As bactérias foram cultivadas em placas de Petri com meio ágar Muller Hinton (MH) a uma temperatura de  $35 \pm 2$  °C por 24 horas na estufa BOD. Após este período, com o auxílio de uma alça, algumas colônias foram isoladas e selecionadas, sendo transferidas para um tubo contendo 5 ml de caldo MH. Em seguida, as culturas foram incubadas em um shaker com agitação orbital a 150 rpm e temperatura de  $35 \pm 2$  °C por 6 horas.

Após esta etapa, foi realizado o protocolo de microdiluição em caldo, ajustando-se os inóculos em caldo MH. Para padronizar a densidade do inóculo, foi

utilizada a solução padrão da escala de McFarland a 0,5, a fim de estimar o número de células presentes em uma suspensão em determinada quantidade.

### 5.2.2 Teste de microdiluição em caldo para bactérias

O inóculo padronizado foi diluído de acordo com as recomendações do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Os óleos essenciais (OEs) utilizados foram diluídos conforme o método descrito por Aligiannis *et al* (2001). Para analisar cada óleo individualmente, os OEs foram preparados individualmente adicionando 795 µL de caldo MH e 5 µL do emulsificante 2% de Tween 80% em um eppendorf.

Em uma placa de Elisa com 96 poços, dispostos em colunas (1 a 12) e 8 linhas (A à H), foram adicionados 100 µL da emulsão do OE isolado nos seis primeiros poços da coluna 1 e em seguida 100 µL do caldo MH no restante dos poços. Com as soluções diluídas, 20 µL da suspensão do inóculo preparado foi adicionado a cada um dos poços, sendo que as duas últimas colunas foram reservadas para realizar o controle positivo. As colunas G e H foram utilizadas para controle positivo, os primeiros seis poços da coluna G e H foram destinados ao controle positivo das bactérias, enquanto os seis poços subsequentes da coluna G e H foram utilizados para o controle do óleo essencial (COE) e controle do meio de cultivo (CMH), contendo apenas o caldo MH, respectivamente. As placas foram incubadas a  $35\pm 2$  °C durante 20 horas.

Após o crescimento, uma quantidade de 20 µL do corante revelador (resazurina) foi adicionada a cada poço da microplaca, que foi incubado por duas horas antes da leitura dos resultados.

### 5.2.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

De acordo, com a metodologia adaptada de Rozatto (2012), a Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada após o período de crescimento dos microrganismos nos testes de microdiluição e antes da aplicação do corante, verificando-se a presença ou ausência de crescimento, a CIM foi realizada de 100% do óleo essencial. Em seguida, foram coletados 5 µL dos dois poços anteriores à CIM, do poço contendo a CIM e dos dois poços posteriores à CIM para cada fileira da placa de Elisa. Esses volumes foram inoculados em placas com meio ágar MH, com uma

distância de 1 cm<sup>2</sup> entre as inoculações, seguida as orientações de um papel milimetrado.

Após a absorção da umidade, as placas foram incubadas a 35±2 °C por 24 horas para posterior análise. A leitura foi realizada observando a evolução dos microrganismos nas concentrações escolhidas e comparando com os testes de microdiluição posterior ao uso do corante, determinando a Concentração Bactericida Mínima (CBM) (Rozatto, 2012).

#### 5.2.4 Combinação de Óleos Essenciais: Olíbano e Wintergreen

Após a determinação das CIM e CBM para os óleos individuais, foram realizadas combinações dos óleos essenciais de Olíbano e Wintergreen. Foram realizados três tratamentos diferentes: Tratamento 1: 75% óleo de Olíbano + 25% óleo de Wintergreen, Tratamento 2: 50% óleo de Olíbano + 50% óleo de Wintergreen, e Tratamento 3: 25% óleo de Olíbano + 75% óleo de Wintergreen. Estas combinações foram submetidas à determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) seguindo o mesmo procedimento mencionado anteriormente.

#### 5.2.5 Teste de Disco-Difusão

A padronização foi realizada ajustando a suspensão de acordo com a escala 0.5 de Mc Farland equivalente de 1 a 2 x 10<sup>8</sup> UFC/ml. Em seguida, foi realizada a técnica de semeadura em placas de Petri contendo ágar MH. Após a absorção da umidade, foram colocados em cada placa de Petri quatro discos de papel filtro com 6 mm de diâmetro, sendo um deles o branco e três contendo 10 µL dos compostos a serem testados.

As placas foram incubadas por um período de 16 a 18 horas a 35±2 °C e, em seguida, observado a presença de halos de inibição circulares e uniformes, que foram medidos em milímetros com o auxílio de um paquímetro.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos a partir da avaliação da ação antimicrobiana dos óleos essenciais de Olíbano (*Boswellia carterii*) e Wintergreen (*Gaultheria procumbens*) sobre sorovares de *Salmonella* spp. de interesse clínico veterinário são apresentados e discutidos a seguir. Os experimentos foram conduzidos utilizando métodos padronizados, como ensaios de atividade antimicrobiana, teste de disco-difusão, teste de microdiluição em caldo, e a determinação das concentrações inibitória mínima (CIM) e bactericida mínima (CBM).

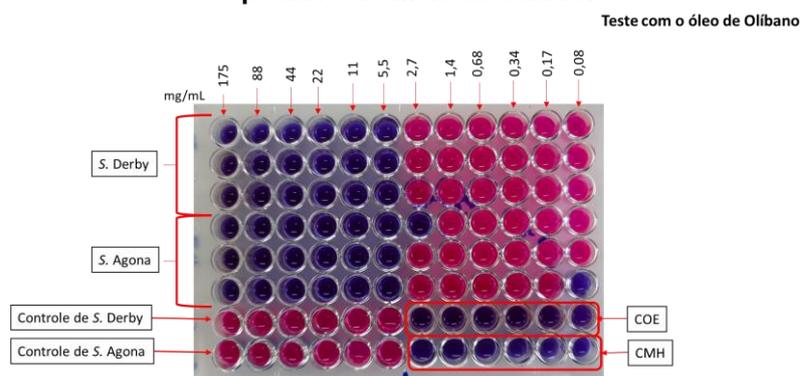
### 6.1 Ensaios de Atividade Antimicrobiana com Óleo de Olíbano

#### 6.1.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Os resultados da CIM foram determinados pela menor concentração dos óleos essenciais que inibiu o crescimento das bactérias na placa de Elisa. Esses valores foram identificados através da leitura visual dos poços da microplaca, onde a cor azul indica inibição do crescimento, enquanto que rosa, sugere crescimento do microrganismo. Caso as cores não estivessem em condições nítidas de avaliação, os resultados foram confirmados através da visualização de precipitado celular ou “*boton*” no fundo dos poços da microplaca.

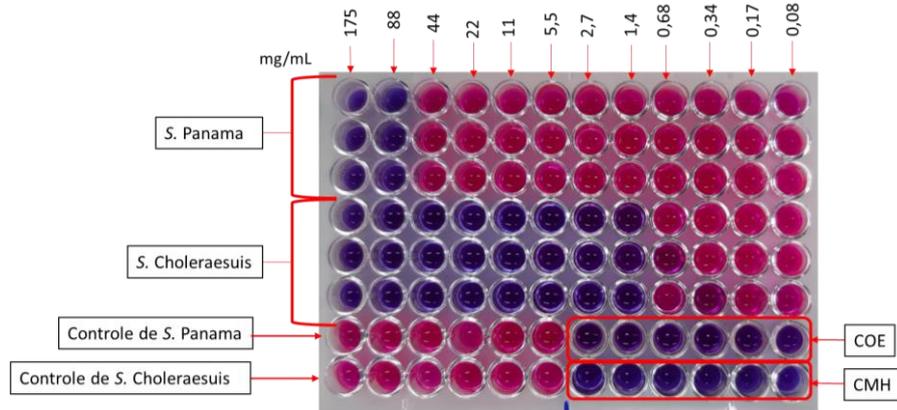
Os dados apresentados na Figura 4 a 7 demonstram que o OE de Olíbano apresentou atividade antimicrobiana variável dependendo do sorovar de *Salmonella* spp testado.

**Figura 4 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do Óleo Essencial de Olíbano (*Boswellia carterii*) em *S. Derby* e *S. Agona*. COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.**



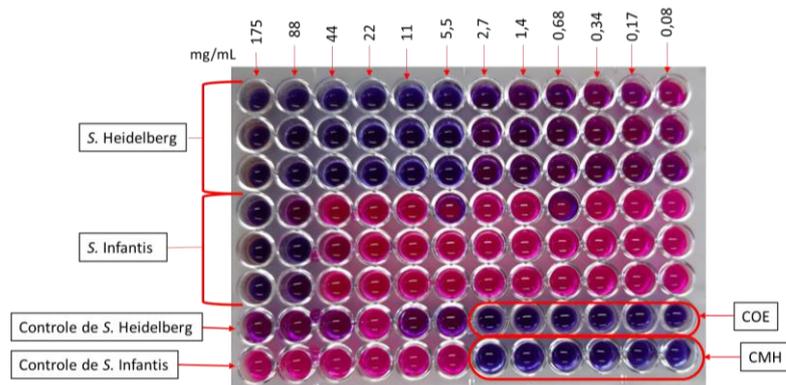
Fonte: Autoria própria.

**Figura 5 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Olíbano (*Boswellia carterii*) em *S. Panama* e *S. Choleraesuis*. COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.**



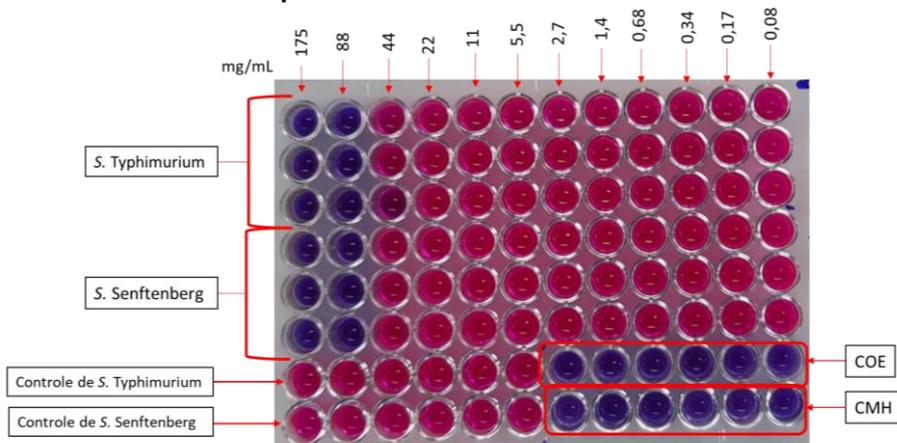
Fonte: Autoria própria.

**Figura 6 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Olíbano (*Boswellia carterii*) em *S. Heidelberg* e *S. Infantis*. COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.**



Fonte: Autoria própria.

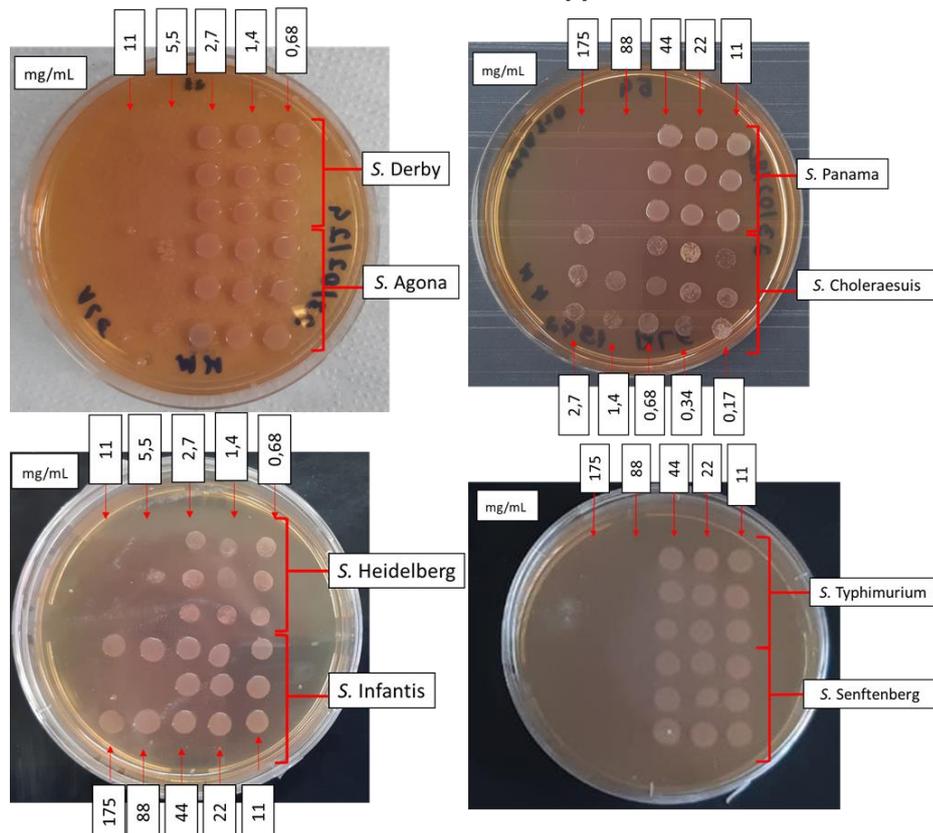
**Figura 7 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Olíbano (*Boswellia carterii*) em *S. Typhimurium* e *S. Senftenberg*. COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.**



Fonte: Autoria própria.

Os testes de Concentração Bactericida Mínima (CBM) foram realizados a partir dos resultados de CIM, conforme mostrado na Figura 8, coletando-se amostras de 5  $\mu$ L dos dois poços anteriores à CIM, do poço contendo a CIM, e dos dois poços posteriores à CIM para cada fileira da placa de Elisa.

**Figura 8 - Concentração Bactericida Mínima (CBM) do OE de Olíbano (*Boswellia carterii*) nas sorovares de *S. spp.***



Fonte: Autoria própria.

#### 6.1.1.1 Análise dos resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima do Óleo de Olíbano

Os resultados obtidos neste estudo indicam que o óleo essencial de Olíbano (*Boswellia carterii*) apresenta uma eficácia antimicrobiana variável contra diferentes sorovares de *Salmonella spp.*, conforme evidenciado pelos valores de Concentração Inibitória e Bactericida Mínima (CIM e CBM) determinados e apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5 - Valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) do Óleo Essencial de Olíbano contra Sorovares de *Salmonella* spp .**

Sorovar	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
S. Derby	5,5	5,5
S. Agona	5,5	11
S. Panama	88	88
S. Chorelauris	1,4	>2,7
S. Heidelberg	5,5	11
S. Infantis	88	>175
S. Typhimurium	88	88
S. Senftenberg	88	88

**Fonte: Autoria própria (2024).**

Os valores de CIM para *S. Derby*, *S. Agona* e *S. Heidelberg* foram de 5,5 mg/mL, sugerindo uma eficácia moderada do óleo contra esses sorovares específicos. Por outro lado, *S. Chorelauris* apresentou uma sensibilidade significativamente maior ao óleo, com uma CIM de 1,4 mg/mL. Em contraste, sorovares como *S. Panama*, *S. Infantis*, *S. Typhimurium* e *S. Senftenberg* necessitaram de concentrações mais altas (88 µL/mL) para inibição, indicando uma eficácia limitada do óleo contra essas bactérias.

Os valores de CBM para *S. Derby* e *S. Typhimurium* foram de 5,5 mg/mL e 88 mg/mL, respectivamente, indicando que essas concentrações do óleo de Olíbano são capazes de exercer efeito bactericida contra essas bactérias. *S. Agona* e *S. Heidelberg* necessitaram de concentrações um pouco mais elevadas, com CBM de 11 mg/mL. Por outro lado, *S. Chorelauris* apresentou uma necessidade de concentração superior a 2,7 mg/mL para efetivamente exercer efeito bactericida, enquanto *S. Infantis* necessitou de uma concentração significativamente maior, superior a 175 mg/mL. Em contraste, *S. Panama* e *S. Senftenberg* apresentaram uma CBM de 88 mg/mL, mostrando que o OE de Olíbano possui uma eficácia bactericida variável dependendo do sorovar testado.

Segundo o estudo de Borotová *et al.* (2023), onde se realizou a avaliação da Concentração Inibitória Mínima do OE de Olíbano (*Boswellia carterii*) por meio do método de microdiluição, encontraram-se os melhores resultados contra a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*, com valores de CIM 50 e CIM 90 de 23,44 e 25,10 mg/mL, respectivamente, enquanto que para a bactéria Gram-negativa *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis, os valores de CIM 50 e CIM 90 foram de 39,69

$\pm 1,64$  mg/mL e  $79,18 \pm 4,98$  mg/mL, respectivamente. Essa diferença de atividade antimicrobiana observada entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas pode ser atribuída à estrutura da parede celular, que torna as Gram-negativas, como a *Salmonella enterica*, mais resistentes aos efeitos do óleo essencial.

O estudo conduzido por Mohamed *et al.* (2015) indicou que extratos da resina de *Boswellia carterii* possuem ampla atividade antimicrobiana contra diversas cepas bacterianas, incluindo *Staphylococcus aureus* (CIM de 25  $\mu$ g/mL), *Bacillus subtilis* (CIM de 25  $\mu$ g/mL), *Escherichia coli* (CIM de 50  $\mu$ g/mL) e *Pseudomonas aeruginosa* (CIM > 1000  $\mu$ g/mL). Este estudo ressaltou que a eficácia antimicrobiana dos extratos de resina variou significativamente, similarmente ao observado com o óleo essencial de Olíbano contra os sorovares de *Salmonella* spp. no presente estudo. A diferença na eficácia pode ser atribuída à composição química específica e às concentrações dos compostos ativos presentes em cada tipo de extrato (Mohamed *et al.*, 2015).

Adicionalmente, Almjalawi *et al.* (2022) avaliaram o extrato aquoso de *Boswellia carterii* e observaram uma atividade antibacteriana significativa contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*. As zonas de inibição aumentaram com a concentração do extrato, alcançando inibições de até 24 mm para *S. aureus* a uma concentração de 200 mg/mL. Além disso, o estudo destacou o potencial imunomodulador do extrato, aumentando a taxa de fagocitose das células sanguíneas. Esses resultados corroboram a eficácia antimicrobiana potencial dos produtos derivados de *Boswellia carterii*, embora com diferenças de eficácia dependendo do método de preparação e do tipo de extrato (Almjalawi *et al.*, 2022).

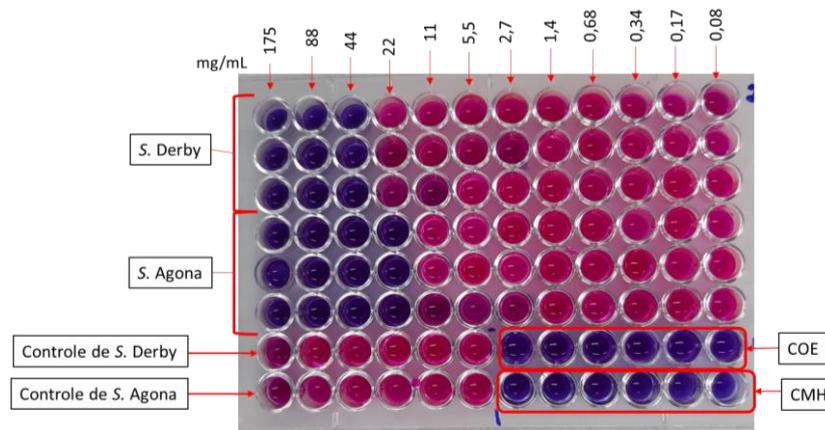
Em suma, os estudos destacam a variabilidade na eficácia antimicrobiana dos extratos e OEs de Olíbano contra diferentes cepas bacterianas. As diferenças observadas são influenciadas pela estrutura celular das bactérias e pela composição química dos extratos. Esses achados sublinham o potencial promissor dos derivados de Olíbano no combate a infecções bacterianas, embora a eficácia varie conforme o método de preparação e a concentração dos compostos ativos utilizados.

## 6.2 Ensaios de Atividade Antimicrobiana com o Óleo de Wintergreen

### 6.2.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

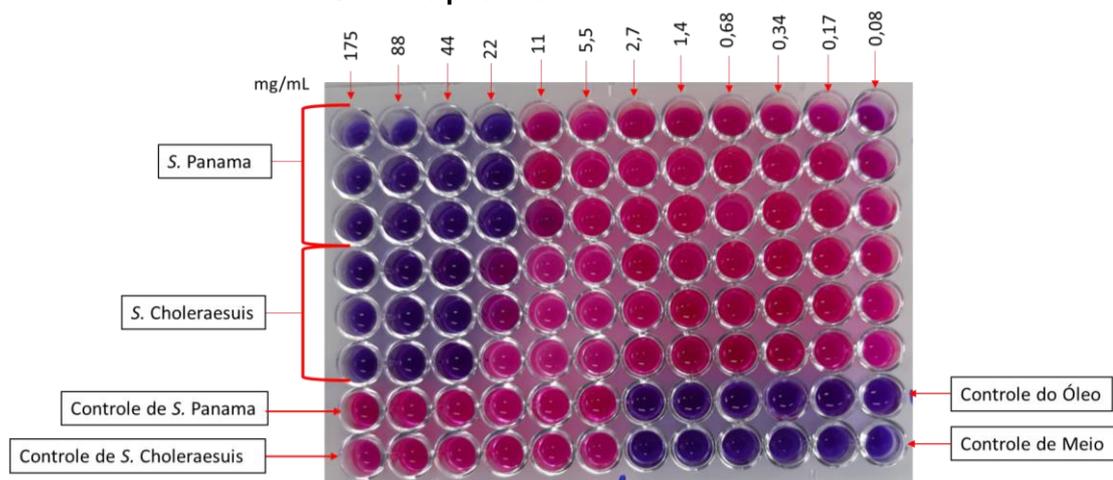
Os resultados obtidos para o teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) utilizando o óleo essencial de Wintergreen (*Gaultheria procumbens*) apresentados nas Figuras 9 a 12, contra diversas sorovares de *Salmonella* demonstraram variações significativas na eficácia antimicrobiana.

**Figura 9 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Wintergren (*Gaultheria procumbens*) em *S. Derby* e *S. Agona*. COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.**



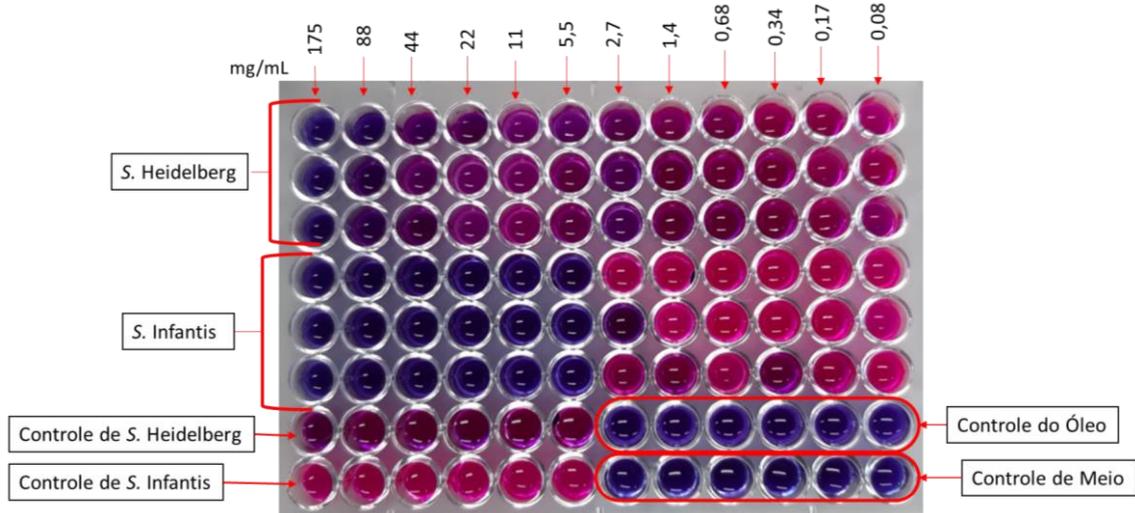
Fonte: Autoria própria.

**Figura 10 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Wintergren (*Gaultheria procumbens*) em *S. Panama* e *S. Choleraesuis*. COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.**



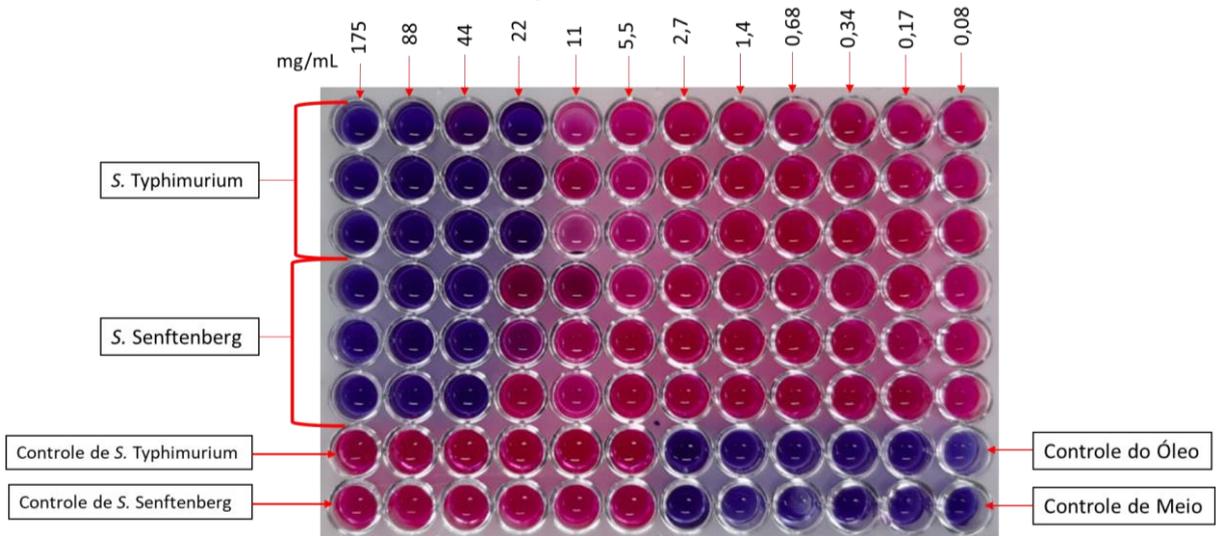
Fonte: Autoria própria.

**Figura 11 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Wintergren (*Gaultheria procumbens*) em *S. Infantis* e *S. Heidelberg*. COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.**



Fonte: Autoria própria.

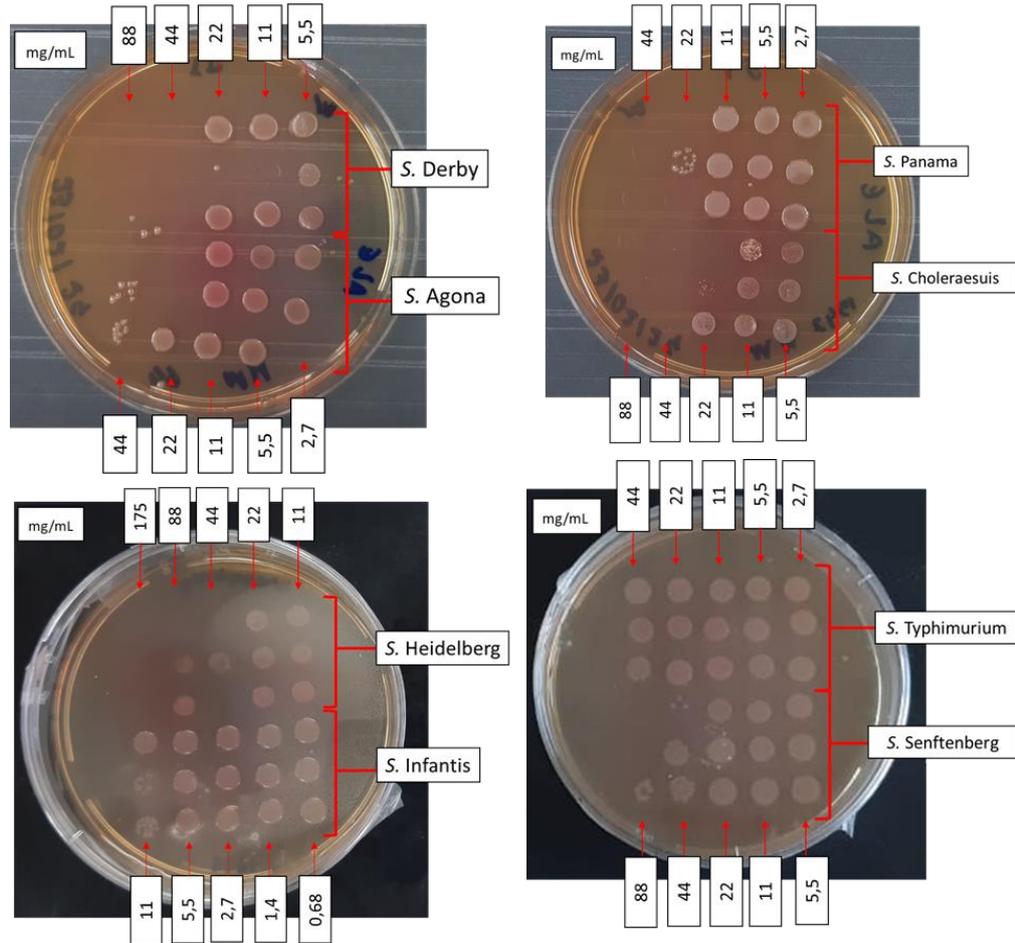
**Figura 12 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OE de Wintergren (*Gaultheria procumbens*) em *S. Typhimurium* e *S. Seftenberg*. COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.**



Fonte: Autoria própria.

Para o OE de Wintergreen, os testes de Concentração Bactericida Mínima (CBM) foram realizados a partir dos resultados de CIM, conforme mostrado na Figura 13, coletando-se amostras de 5  $\mu$ L dos dois poços anteriores à CIM, do poço contendo a CIM, e dos dois poços posteriores à CIM para cada fileira da placa de Elisa.

Figura 13 - Concentração Bactericida Mínima (CBM) do OE de Wintergreen (*Gaultheria procumbens*) sobre sorovares de *S. spp.*



Fonte: Autoria própria.

#### 6.2.1.1 Análise dos resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do Óleo de Wintergreen

Os resultados obtidos neste estudo indicam que o óleo essencial de Wintergreen (*Gaultheria procumbens*) apresenta uma eficácia antimicrobiana variável contra diferentes sorovares de *Salmonella* spp., conforme evidenciado pelos valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) determinados e apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6 - Valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) do Óleo Essencial de Wintergreen contra Sorovares de *Salmonella* spp.**

Sorovar	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
S. Derby	44	44
S. Agona	22	>44
S. Panama	22	22
S. Choleraesuis	44	44
S. Heidelberg	44	174
S. Infantis	5,5	>11
S. Typhimurium	22	>44
S. Senftenberg	50	100

Fonte: Autoria própria (2024).

Os valores de CIM para *S. Agona*, *S. Panama*, e *S. Typhimurium* foram de 22 mg/mL, sugerindo uma eficácia moderada do óleo contra esses sorovares específicos. Por outro lado, *S. Infantis* apresentou uma sensibilidade maior ao óleo, com uma CIM de 5,5 mg/mL. Em contraste, as demais sorovares necessitam de concentrações mais altas (44 mg/mL) para inibição de seu crescimento.

Já os valores de CBM para *S. Derby* e *S. Panama* foram de 44 mg/mL, indicando que essa concentração do óleo de Wintergreen é capaz de exercer efeito bactericida contra essas bactérias. *S. Agona* necessitou de uma concentração um pouco mais elevada, com CBM de 22 mg/mL. Por outro lado, *S. Choleraesuis* apresentou uma necessidade de concentração superior a 44 mg/mL para efetivamente exercer efeito bactericida, enquanto *S. Heidelberg* necessitou de uma concentração significativamente maior, de 174 mg/mL. Em contraste, *S. Infantis* e *S. Typhimurium* apresentaram uma CBM superior a 11 mg/mL e 44 mg/mL, respectivamente, mostrando que o óleo essencial de Wintergreen possui uma eficácia bactericida variável dependendo do sorovar testado. *S. Senftenberg* teve uma CBM de 88 mg/mL, destacando ainda mais a variabilidade na resposta dos sorovares ao tratamento.

Segundo o estudo de Nóbrega *et al* (2023), onde se realizou a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do OE de Wintergreen (*Gaultheria procumbens*) contra diferentes cepas de *Klebsiella pneumoniae*, a CIM do OE variou de 256 µg/mL a 512 µg/mL para a maioria das cepas de *Klebsiella pneumoniae*, sendo classificada como forte (até 500 µg/mL) e moderada (entre 600 e 1500 µg/mL). Quanto à atividade bactericida, a CBM do óleo essencial

variou de 1.024 µg/mL a 256 µg/mL, demonstrando tanto efeito bactericida quanto bacteriostático contra as cepas testadas.

Esses resultados sugerem que o OE de Wintergreen possui um potencial antimicrobiano promissor, podendo ser explorado como uma alternativa terapêutica natural contra infecções causadas por microrganismos resistentes, como a *Salmonella*.

O artigo menciona que o OE de Wintergreen possui como principal composto o metil salicilato, o qual pode estar relacionado à sua atividade antimicrobiana. Além disso, o óleo também apresenta compostos fenólicos e atividades anti-inflamatória e antioxidante, que podem contribuir para seu efeito inibitório. Essa composição química diversificada pode ter sido um dos fatores que conferiram a potente atividade antimicrobiana observada contra as cepas da bactéria gram-negativa de *Klebsiella pneumoniae*.

### 6.3 Combinação dos Óleos essenciais

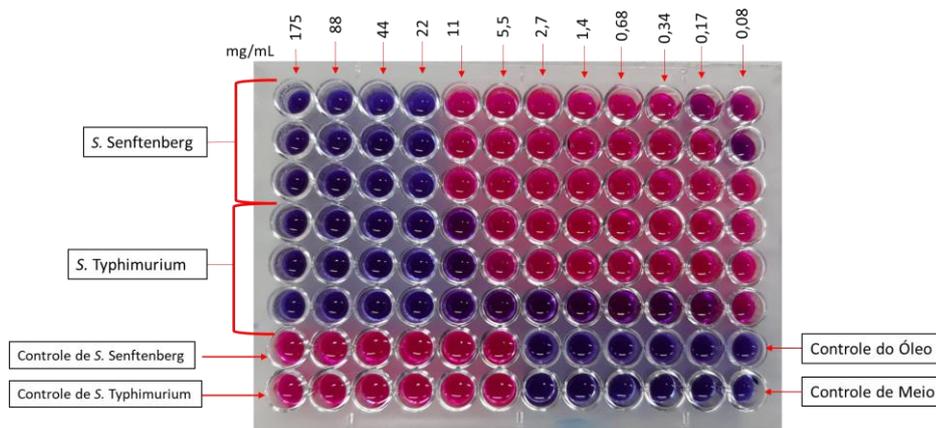
Neste estudo, investigou-se a eficácia da combinação dos dois óleos essenciais, Olíbano e Wintergreen, contra sorovares de *Salmonella* selecionados a partir de um teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) realizado previamente com os óleos individuais. As sorovares mais resistentes aos OE individuais, identificadas como *S. Typhimurium* e *S. Senftenberg*, foram escolhidas para os testes subsequentes com a combinação dos óleos. Três tratamentos distintos foram avaliados: T1 (75% óleo essencial de Olíbano + 25% óleo essencial de Wintergreen), T2 (50% de cada óleo essencial) e T3 (25% óleo essencial de Olíbano + 75% óleo essencial de Wintergreen).

No Tratamento 1, observou-se que a *S. Senftenberg* apresentou uma CIM de 22 mg/mL. Este resultado é significativo, pois demonstra que a combinação dos OEs foi mais eficaz do que os OEs individuais, sugerindo um efeito sinérgico. Comparativamente, o Wintergreen individual teve uma CIM de 44 mg/mL e o Olíbano de 88 mg/mL para a mesma bactéria.

Para *S. Typhimurium*, a CIM foi de 11 mg/mL no Tratamento 1. Isoladamente, o Wintergreen necessitou de uma CIM de 22 mg/mL e o Olíbano de 88 mg/mL para inibir esta bactéria. Esses resultados indicam que a combinação de 75% de Olíbano com 25% de Wintergreen potencializa a ação antimicrobiana e reduz

significativamente a concentração necessária para a inibição, conforme mostrado na Figura 14.

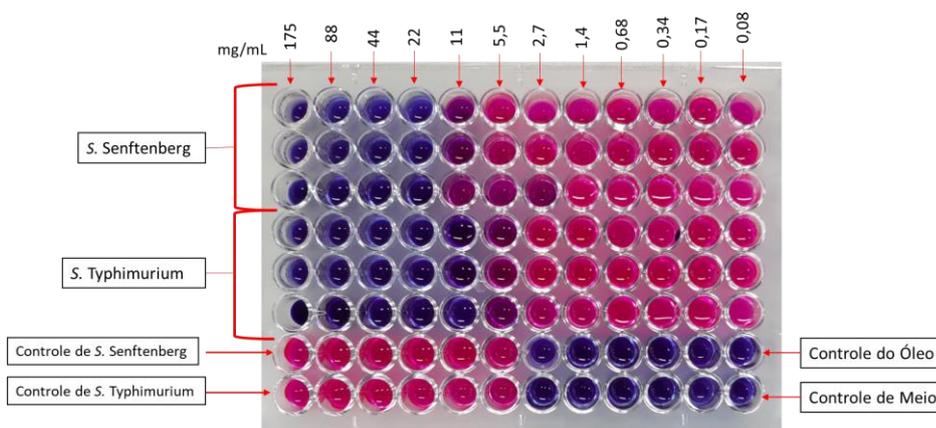
**Figura 14 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) com o Tratamento 1 em *S. Seftenberg* e *S. Typhimurium*. COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.**



Fonte: Autoria própria (2024).

No Tratamento 2, que combinou 50% de óleo de Olíbano e 50% de óleo de Wintergreen, a CIM foi de 22 mg/mL para *S. Seftenberg* e 11 mg/mL para *S. Typhimurium*. Em comparação, o óleo de Wintergreen sozinho apresentou uma CIM de 44 mg/mL para *S. Seftenberg* e 22 mg/mL para *S. Typhimurium*, enquanto o óleo de Olíbano teve uma CIM de 88 mg/mL para ambas. A combinação dos óleos demonstrou maior eficácia, reduzindo significativamente a CIM e indicando uma sinergia entre os óleos essenciais, conforme mostra a Figura 15.

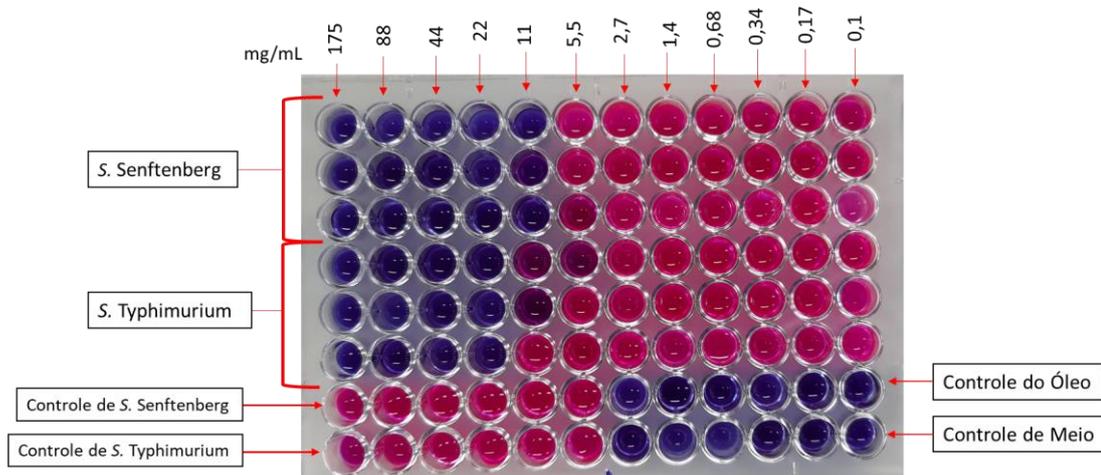
**Figura 15 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) com o Tratamento 2 (50% OE de Olíbano + 50% OE de Wintergreen) em *S. Typhimurium* e *S. Seftenberg*. COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.**



Fonte: Autoria própria (2024).

No tratamento 3, a CIM para a bactéria *S. Senftenberg* foi de 11 mg/mL demonstrando que a combinação dos óleos essenciais foi mais eficiente do que individuais e comparado aos outros tratamentos foi mais eficiente, ou seja, a concentração maior do OE de Wintergreen possibilitou uma inibição com uma concentração menor, conforme mostra a Figura 16. Já para a bactéria *S. Typhimurium* a CIM foi de 22 mg/mL demonstrando a combinação dos OEs foi relativamente eficiente, visto que esta concentração foi a mesma com o OE de Wintergreen individual.

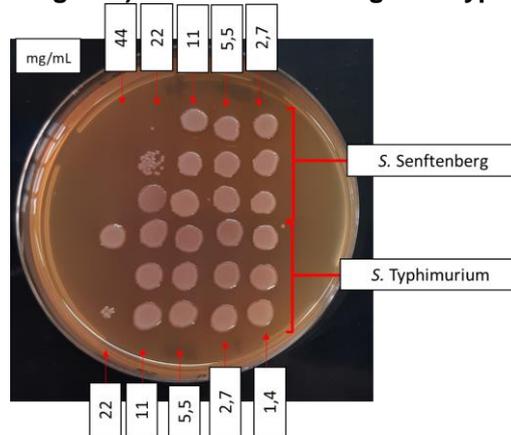
**Figura 16 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) com o Tratamento 3 (25% OE de Olíbano + 75% OE de Wintergreen) em *S. Seftenmberg* e *S. Typhimurium*. COE: Controle positivo do óleo essencial. CMH: Controle positivo do meio de cultivo.**



Fonte: Aatoria própria (2024).

Já a CBM com o Tratamento 1, os resultados foram superiores a 44 mg/mL para a *S. Senftenberg* e para a *S. Typhimurium* foi superior a 22 mg/mL, visto que ocorreu crescimento na placa de Petri. Para a *S. Senftenberg*, a CBM com os OEs individuais foi de 88 mg/mL, tanto para OE de Wintergreen, quanto com o OE de Olíbano, indicando ser necessária o dobro da concentração para ter um efeito bactericida nesta bactéria em comparação ao tratamento combinado. Já a bactéria *S. Typhimurium* teve uma CBM com OE individual de Olíbano de 88 mg/mL, e com OE de Wintergreen de 44 mg/mL, neste caso, com esta combinação dos OEs não é possível determinar a CBM exata, já que houve o crescimento de colônias, e sendo assim não é possível determinar se a combinação dos OEs teve eficácia melhor do que com os OE individuais, conforme mostra a Figura 17.

**Figura 17 - Concentração Bactericida Mínima (CBM) com o Tratamento 1 (50% OE de Olíbano + 50% OE de Wintergreen) em *S. Seftenberg* e *S. Typhimurium*.**

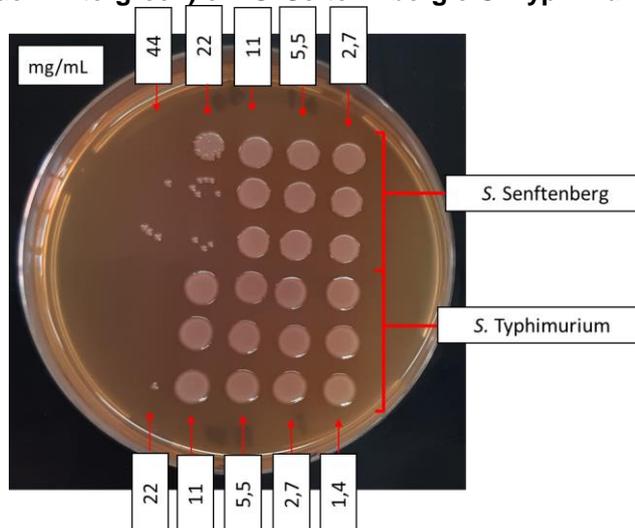


Fonte: Autoria própria (2024).

Portanto, a combinação de 75% de Olíbano e 25% de Wintergreen no Tratamento 1 reduziu a CBM necessária para eliminar a *S. Seftenberg*, no entanto para a *S. Typhimurium* é necessário mais estudo para verificar a sinergia potencial entre os óleos essenciais.

No Tratamento 2, a CBM foi superior a 44 mg/mL tanto para *S. Seftenberg*, visto que pode ser observado a presença de colônias em pontos avaliados no teste do *spot*, enquanto para *S. Typhimurium* a CBM foi de 22 mg/mL, ou seja, a concentração para matar esta bactéria é maior que a concentração para inibir seu crescimento, conforme mostra a Figura 18. A combinação dos OEs foi significativamente mais eficaz, indicando uma forte sinergia entre os OEs.

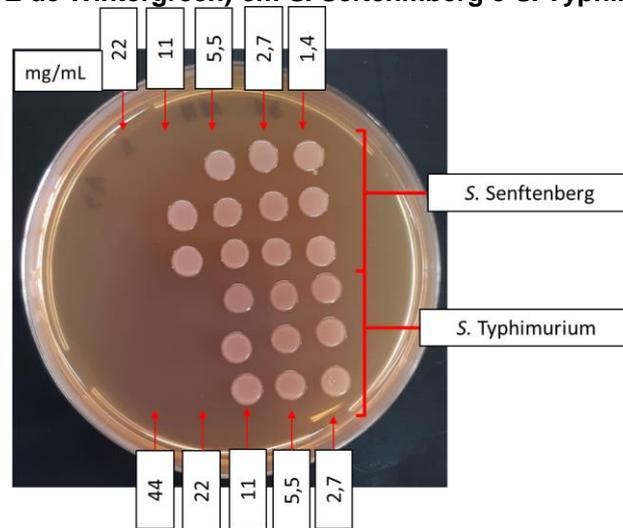
**Figura 18 - Concentração Bactericida Mínima (CBM) com o Tratamento 2 (50% OE de Olíbano + 50% OE de Wintergreen) em *S. Seftenberg* e *S. Typhimurium*.**



Fonte: Autoria própria (2024).

O resultado da CBM para o Tratamento 3 foi de 22 mg/mL tanto para *S. Senftenberg* quanto para *S. Typhimurium*. Comparativamente, o OE de Olíbano sozinho apresentou uma CBM de 88 mg/mL para ambas as cepas, e o OE de Wintergreen teve uma CBM de 88 mg/mL para a *S. Senftenberg* e 44 mg/mL para a *S. Typhimurium*. A combinação dos OEs foi significativamente mais eficaz, para ambas as sorovares, reduzindo a CBM e demonstrando uma forte sinergia entre os óleos essenciais, conforme mostra a Figura 19.

**Figura 19 - Concentração Bactericida Mínima (CBM) com o Tratamento 3 (25% OE de Olíbano + 75% OE de Wintergreen) em *S. Seftenmberg* e *S. Typhimurium*.**



Fonte: Autoria própria (2024).

As tabelas a seguir apresentam os dados detalhados dos testes de CIM e CBM para as três combinações de OE de Olíbano e Wintergreen contra as bactérias *S. Senftenberg* e *S. Typhimurium*. A primeira tabela resume os resultados do CIM, enquanto a segunda tabela mostra os valores do CBM, permitindo uma comparação clara da eficácia de cada tratamento nas diferentes concentrações de óleos essenciais.

**Tabela 7 - Valores da Concentração Inibitória Mínima**

Bactérias	Tratamentos			Óleos essenciais individuais	
	T1 (mg/mL)	T2 (mg/mL)	T3 (mg/mL)	Olíbano	Wintergreen
<i>S. Senftenberg</i>	22	22	11	88	22
<i>S. Typhimurium</i>	11	11	22	88	44

Fonte: Autoria própria (2024).

Tabela 8 - Valores da Concentração Bactericida Mínima

Bactérias	Tratamentos			Óleos essenciais individuais	
	T1 (mg/mL)	T2 (mg/mL)	T3 (mg/mL)	Olíbano	Wintergreen
S. Senftenberg	44	>44	22	88	88
S. Typhimurium	>22	24	22	88	>44

Fonte: Autoria própria (2024).

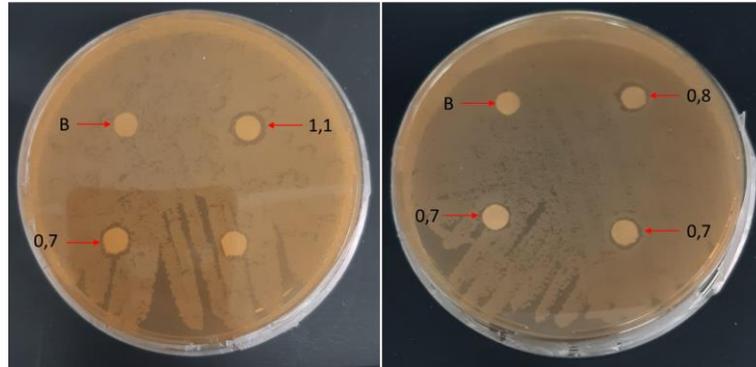
Dada a ausência de artigos para comparação direta, os resultados obtidos nos testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) fornecem uma contribuição significativa para o entendimento da eficácia das combinações de óleos essenciais de Olíbano e Wintergreen contra as cepas de *Salmonella* testadas. A redução na CIM e CBM em relação aos óleos individuais sugere uma interação sinérgica entre os componentes dos óleos essenciais, resultando em maior atividade antimicrobiana. Esses resultados destacam o potencial das combinações de óleos essenciais como agentes promissores contra patógenos resistentes, ressaltando a importância de investigações adicionais para elucidar os mecanismos subjacentes a essa sinergia e otimizar sua aplicação clínica.

#### 6.3.1.1 Resultados da Combinação dos Óleos Essenciais no Teste de Disco de Fusão

Os resultados do teste de disco de fusão com as combinações de OE de Olíbano e Wintergreen foram avaliados para confirmar qualitativamente a eficácia antimicrobiana contra as cepas de *Salmonella*, *S. Senftenberg* e *S. Typhimurium*. Os testes foram realizados em duplicata para garantir a precisão dos dados.

Para a bactéria *S. Senftenberg* no Tratamento 1 (75% de óleo de Olíbano e 25% de óleo de Wintergreen), as zonas de inibição variaram entre 0,7 cm e 1,1 cm nas duplicatas, indicando uma eficiente atividade antimicrobiana, conforme mostra a Figura 20.

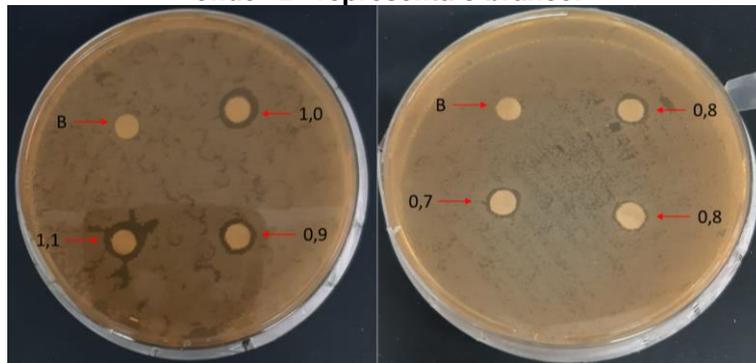
**Figura 20 - Teste de Disco de Difusão com o Tratamento 1 (75% óleo essencial de Olíbano + 25% óleo essencial de Wintergreen) contra *Salmonella Senftenberg*. Onde "B" representa o branco.**



**Fonte: Autoria própria (2024).**

Em comparação, o Tratamento 2 (50% de óleo de Olíbano e 50% de óleo de Wintergreen) mostrou zonas de inibição mais amplas, variando de 0,7 cm a 1,1 cm, sugerindo uma eficácia antimicrobiana, conforme mostra a Figura 21.

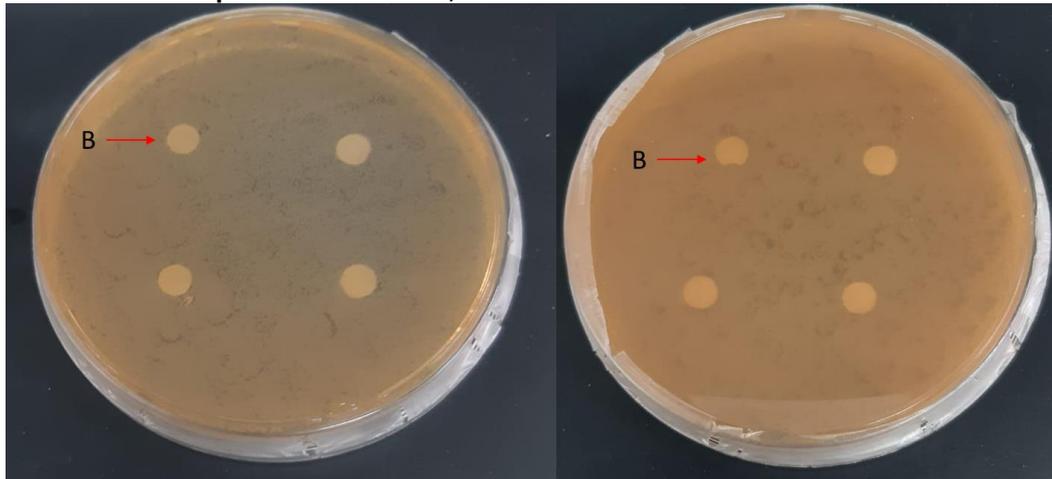
**Figura 21 - Resultado do Teste de Disco de Fusão com o Tratamento 2 com a *S. Senftenberg*, onde "B" representa o branco.**



**Fonte: Autoria própria (2024).**

No Tratamento 3 (25% de óleo de Olíbano e 75% de óleo de Wintergreen), não houve formação de zona de inibição, indicando ausência de atividade antimicrobiana contra *S. Senftenberg*, conforme mostra a Figura 22.

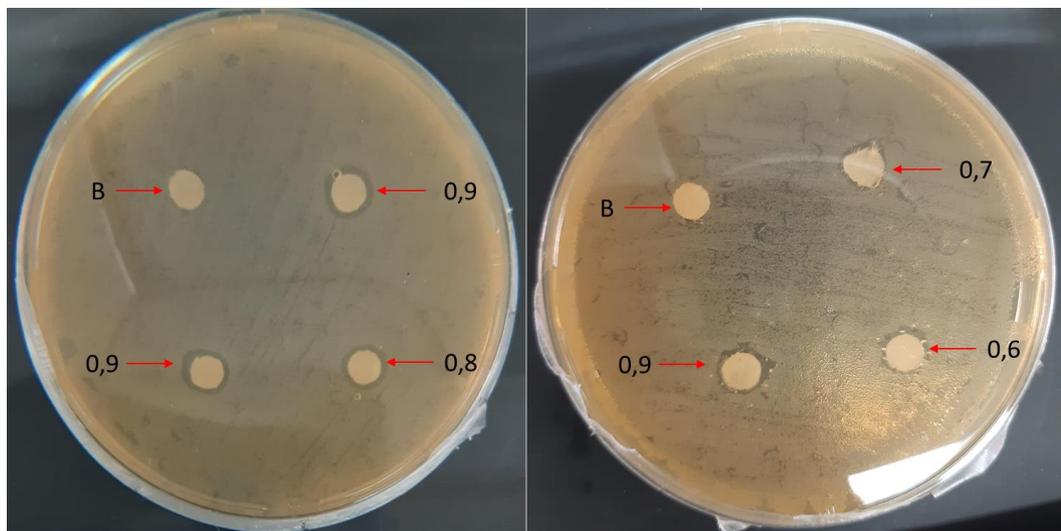
**Figura 22 - Resultado do Teste de Disco de Fusão com o Tratamento 3 com a *S. Senftenberg*, onde "B" representa o branco, e os outros três discos com o tratamento.**



**Fonte: Autoria própria (2024).**

Para a bactéria *S. Typhimurium*, o Tratamento 1 apresentou zonas de inibição variando de 0,6 cm a 0,9 cm nas duplicatas, demonstrando uma atividade antimicrobiana moderada, conforme mostra a Figura 23.

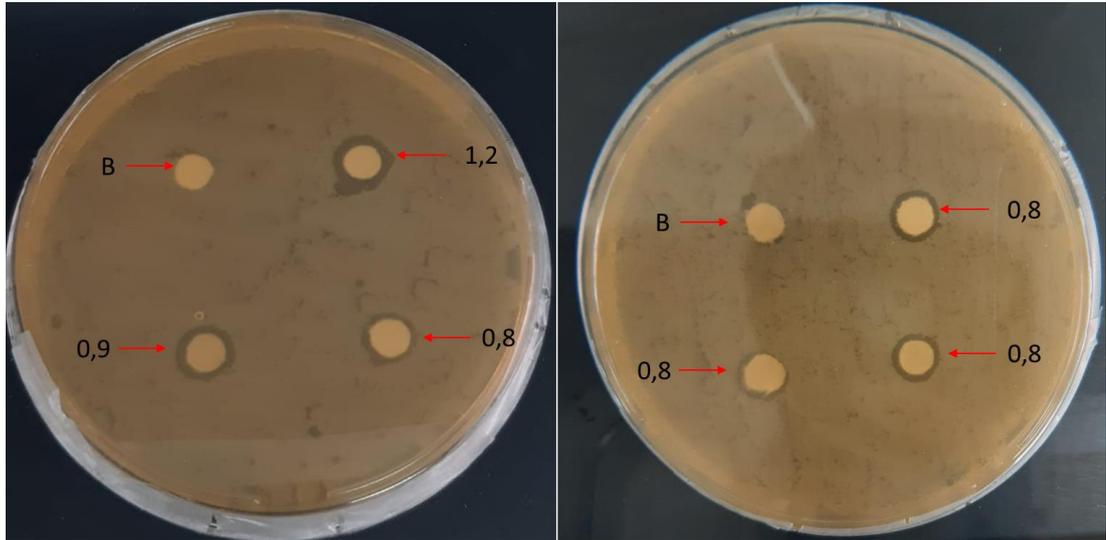
**Figura 23 - Resultado do Teste de Disco de Fusão com o Tratamento 1 com a *S. Typhimurium*, onde "B" representa o branco.**



**Fonte: Autoria própria (2024).**

No Tratamento 2, as zonas de inibição variaram de 0,8 cm a 1,2 cm, indicando uma eficácia maior em comparação com o Tratamento 1, conforme mostra a Figura 24.

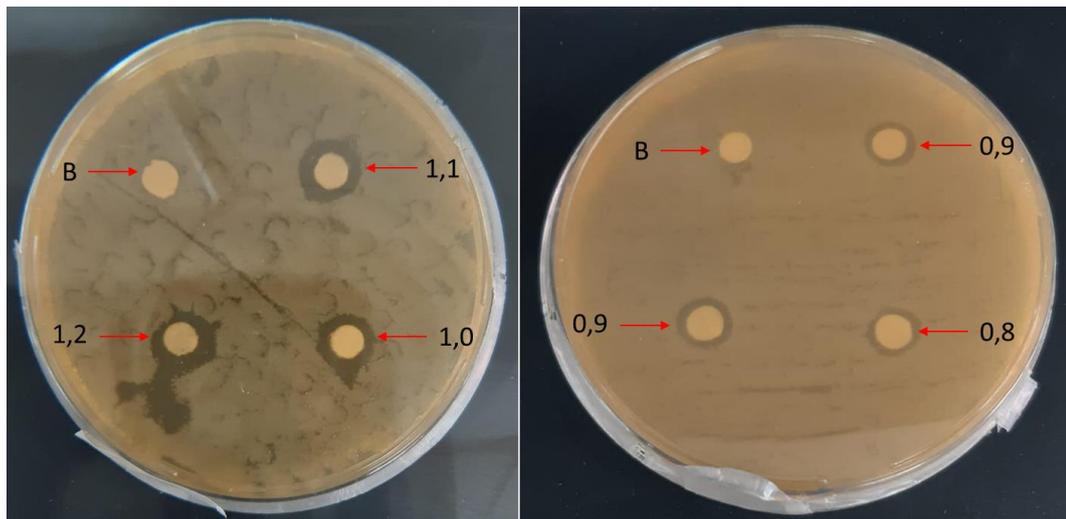
**Figura 24 - Resultado do Teste de Disco de Fusão com o Tratamento 2 com a *S. Typhimurium*, onde "B" representa o branco.**



Fonte: Autoria própria (2024).

O Tratamento 3 mostrou as maiores zonas de inibição, variando de 0,8 cm a 1,2 cm, sugerindo um aumento da eficácia antimicrobiana contra *S. Typhimurium*, conforme mostra a Figura 25.

**Figura 25 - Resultado do Teste de Disco de Fusão com o Tratamento 3 com a *S. Typhimurium*, onde "B" representa o branco.**



Fonte: Autoria própria (2024).

### 6.3.1.2 Análise Comparativa dos Resultados dos Tratamentos com Óleos Essenciais por disco difusão

A semelhança na capacidade de inibição bacteriana observada nos diferentes tratamentos com concentrações variadas dos OEs Olíbano e Wintergreen levanta questões intrigantes e sugere a presença de mecanismos sinérgicos entre essas substâncias. Mesmo com proporções distintas dos óleos na combinação, os resultados de Concentração Inibitória Mínima (CIM) próximos indicam uma possível interação entre os compostos que resulta em um efeito conjunto na inibição do crescimento bacteriano.

Ao comparar esses resultados com os obtidos nos testes individuais com cada óleo essencial, é interessante notar que a combinação dos OEs apresentou uma eficácia semelhante ou até mesmo superior em relação aos óleos isolados. Isso sugere que a sinergia entre o Olíbano e o Wintergreen pode potencializar suas propriedades antimicrobianas, resultando em um efeito combinado mais eficaz contra as sorovares resistentes de *Salmonella*.

Segundo o estudo de Borotová *et al* (2023), onde se realizou a avaliação da atividade antimicrobiana do OE de Olíbano por meio do método de difusão em disco, foi observada uma forte atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. De acordo com os autores, a atividade antimicrobiana foi observada contra as bactérias Gram-positivas *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, com halos de inibição de  $37,34 \pm 2,08$  mm e  $31,34 \pm 1,53$  mm, respectivamente. Forte atividade também foi determinada para bactérias Gram-negativas, como *Pseudomonas aeruginosa* ( $26,00 \pm 2,00$  mm), *Yersinia enterocolitica* ( $28,00 \pm 2,00$  mm) e *Salmonella enterica* sorovar Enteritidis ( $26,00 \pm 2,00$  mm).

Segundo o estudo de Tkaczenko *et al.* (2023), no qual se realizou testes in vitro para avaliar a eficácia antibacteriana do óleo essencial comercial de Wintergreen contra cepas Gram-positivas e Gram-negativas, foram encontrados os seguintes resultados relevantes para a discussão dos nossos achados:

O estudo demonstrou que o óleo essencial de Wintergreen apresentou atividade antimicrobiana significativa contra bactérias Gram-positivas, como as cepas de *Enterococcus faecalis*. Após a aplicação do óleo essencial, observou-se um aumento estatisticamente significativo no diâmetro da zona de inibição do crescimento da cepa *Enterococcus faecalis* em 40,3% ( $p < 0,05$ ) e da cepa *Enterococcus faecalis* em 63,6% ( $p < 0,05$ ), em comparação aos grupos controle.

Por outro lado, as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* mostraram-se resistentes ao OE de Wintergreen, não apresentando alterações significativas nos diâmetros das zonas de inibição em comparação aos controles. Esses resultados do artigo sugerem que o OE de Wintergreen possui atividade antimicrobiana seletiva, sendo mais eficaz contra bactérias Gram-positivas, como o *Enterococcus faecalis*, e menos ativo contra bactérias Gram-negativas, como a *Salmonella* spp.

Segundo o estudo de Jintanasirinurak *et al.* (2023), onde se realizou a avaliação da atividade antibacteriana do OE de Wintergreen contra as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, foi encontrado que o óleo essencial apresentou atividade antibacteriana moderada. Os autores relataram que o óleo essencial de Wintergreen exibiu zonas de inibição de  $7,90 \pm 0,8$  mm e  $23,9 \pm 0,9$  mm contra *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente.

Esses resultados sugerem que o óleo essencial de Wintergreen possui atividade antibacteriana moderada, sendo mais efetivo contra a bactéria Gram-positiva *S. aureus* do que contra a Gram-negativa *E. coli*. Essa diferença na suscetibilidade pode estar relacionada à composição química do óleo, uma vez que o artigo identificou através de análise por cromatografia gasosa e espectrometria de massa que o principal componente do óleo de Wintergreen é o metil salicilato.

É importante ressaltar que, até o momento, não foram encontrados artigos na literatura científica que abordem especificamente a combinação desses dois OEs em concentrações variadas contra as sorovares de *Salmonella* selecionadas. Portanto, a ausência de referências prévias destaca a necessidade de estudos mais aprofundados e abrangentes para investigar e validar os resultados obtidos neste experimento.

Um estudo mais detalhado que explore os mecanismos de ação, a interação entre os compostos e os efeitos da combinação dos óleos essenciais em diferentes concentrações pode fornecer insights valiosos para a compreensão do potencial terapêutico dessas substâncias no combate a infecções bacterianas resistentes. Dessa forma, a realização de pesquisas adicionais é fundamental para expandir o conhecimento nessa área e abrir caminho para possíveis aplicações clínicas e terapêuticas inovadoras.

## 7 CONCLUSÃO

Este trabalho de conclusão de curso investigou a ação antimicrobiana dos óleos essenciais de Olíbano (*Boswellia carterii*) e Wintergreen (*Gaultheria procumbens*) sobre sorovares de *Salmonella* spp de interesse clínico veterinário. Através de uma série de testes laboratoriais, incluindo a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Bactericida Mínima (CBM) e teste de disco-difusão, foram obtidos resultados significativos que demonstram o potencial destes óleos essenciais como agentes antimicrobianos.

Os ensaios realizados mostraram que ambos os óleos possuem atividade inibitória e bactericida contra os sorovares testados, com variações na eficácia dependendo da concentração e da combinação dos óleos. A combinação dos óleos essenciais em alguns casos apresentou uma sinergia que aumentou a eficácia antimicrobiana, sugerindo que a utilização combinada pode ser uma estratégia promissora no combate a patógenos de interesse veterinário. Os testes de disco-difusão revelaram que as zonas de inibição variaram de 6 cm a 12 cm dependendo do tratamento e da cepa de *Salmonella*, indicando uma atividade antimicrobiana variável, mas presente.

Estes resultados são particularmente relevantes para a prática clínica veterinária, onde a infecção por *Salmonella* pode causar doenças graves em animais e representar um risco para a saúde pública. O uso de óleos essenciais como alternativa ou complemento aos métodos convencionais de controle de patógenos pode contribuir para a saúde animal e para a redução do uso de antibióticos, mitigando assim o problema da resistência antimicrobiana.

## 8 REFERÊNCIAS

ALIBI, Sana et al. Activity of Essential Oils Against Multidrug-Resistant *Salmonella enteritidis*. *Current Microbiology*, [S.L.], v. 79, n. 9, p. 0-0, 30 jul. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-022-02938-x>.

ALMJALAWI, Batool Shakir Abed et al. Antibacterial activity of *Boswellia carterii* aqueous extract and its effect on Phagocytosis in vitro. **Archives Of Razi Institute**, [S.L.], n., p. 545-552, jan. 2022. Razi Vaccine & Serum Research Institute. <http://dx.doi.org/10.22092/ari.2022.356956.1946>.

AZAMBUJA, Wagner. Óleo Essencial de Cardamomo.2019. Disponível em: <https://www.oleosessenciais.org/oleo-essencial-de-olibano/>. Acesso em: 06 jun. 2024.

ANTONY, Linto et al. Genome divergence and increased virulence of outbreak associated *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Heidelberg. **Gut Pathogens**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 0-0, dez. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13099-018-0279-0>.

BAETEN, Jan et al. Holy Smoke in Medieval Funerary Rites: chemical fingerprints of frankincense in southern belgian incense burners. *Plos One*, [S.L.], v. 9, n. 11, 12 nov. 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0113142>.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food And Chemical Toxicology**, [S.L.], v. 46, n. 2, p. 446-475, fev. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.

BERG, Redmar R. van Den et al. Characterization and whole genome sequencing of closely related multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Heidelberg isolates from imported poultry meat in the Netherlands. **Plos One**, [S.L.], v. 14, n. 7, p. 0-0, 22 jul. 2019. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0219795>.

BOROTOVÁ, Petra *et al.* Antioxidant, Antimicrobial, and Anti-Insect Properties of *Boswellia carterii* Essential Oil for Food Preservation Improvement. **Horticulturae**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 333-0, 3 mar. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/horticulturae9030333>.

CHIU, Cheng-Hsun *et al.* *Salmonella enterica* Serotype Choleraesuis: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Disease, and Treatment. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 311-322, abr. 2004. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.17.2.311-322.2004>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1069006/>. Acesso em: 02 jun. 2024.

CHLEBICZ, Agnieszka *et al.* Campylobacteriosis, Salmonellosis, Yersiniosis, and Listeriosis as Zoonotic Foodborne Diseases: a review. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, [S.L.], v. 15, n. 5, p. 863, 26 abr. 2018. MDPI AG. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph15050863>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5981902/>. Acesso em: 01 jun. 2024.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard.

CRUMP, John A. *et al.* Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.L.], v. 28, n. 4, p. 901-937, out. 2015. American Society for Microbiology. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/cmr.00002-15>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4503790/>. Acesso em: 02 jun. 2024.

CUI, S. *et al.* Characterization of *Salmonella enterica* isolates from infants and toddlers in Wuhan, China. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [S.L.], v. 63, n. 1, p. 87-94, 18 out. 2008. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkn452>.

CUMMINS, Max L. *et al.* Whole-Genome Sequence Analysis of an Extensively Drug-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Agona Isolate from an Australian Silver Gull (*Chroicocephalus novaehollandiae*) Reveals the Acquisition of Multidrug Resistance Plasmids. **Mosphere**, [S.L.], v. 5, n. 6, p. 00-0, 23 dez. 2020. American Society for Microbiology. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/msphere.00743-20>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/org/science/article/pii/S2379504220004300#s1>. Acesso em: 02 jun. 2024.

DIEMERT, Sabrina *et al.* Municipal Wastewater Surveillance Revealed a High Community Disease Burden of a Rarely Reported and Possibly Subclinical *Salmonella enterica* Serovar Derby Strain. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 86, n. 17, p. 0-0, 18 ago. 2020. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.00814-20>.

DONG, Nian *et al.* The phenotypic and molecular characteristics of antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium in Henan Province, China. **Bmc Infectious Diseases**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 0-0, 15 jul. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-020-05203-3>.

DRAUCH, Victoria *et al.* In-vitro testing of bacteriostatic and bactericidal efficacy of commercial disinfectants against *Salmonella Infantis* reveals substantial differences between products and bacterial strains. **International Journal Of Food Microbiology**, [S.L.], v. 328, p. 108660, set. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108660>.

DRAUCH, Victoria *et al.* Infection dynamics of *Salmonella Infantis* strains displaying different genetic backgrounds – with or without pESI-like plasmid – vary considerably. **Emerging Microbes & Infections**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1471-1480, 1 jan. 2021. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2021.1951124>.

FENG, Ye *et al.* Microbiological and genomic investigations of invasive *Salmonella enterica* serovar Panama from a large outbreak in Taiwan. **Journal Of The Formosan Medical Association**, [S.L.], v. 121, n. 3, p. 660-669, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfma.2021.07.002>.

FOLEY, Steven L. *et al.* Population Dynamics of Salmonella enterica Serotypes in Commercial Egg and Poultry Production. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 77, n. 13, p. 4273-4279, jul. 2011. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.00598-11>.

FUTOMA-KOŁOCH, Bożena *et al.* Relationship of Triamine-Biocide Tolerance of Salmonella enterica Serovar Senftenberg to Antimicrobial Susceptibility, Serum Resistance and Outer Membrane Proteins. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 18, n. 7, p. 1459, 11 jul. 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms18071459>.

JAJERE, Saleh Mohammed *et al.* A review of Salmonella enterica with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. **Veterinary World**, [S.L.], v. 12, n. 4, p. 504-521, abr. 2019. Veterinary World. <http://dx.doi.org/10.14202/vetworld.2019.504-521>.

JINTANASIRINURAK, Sumonrat *et al.* Chemical Analysis and Bioactivities of Gaultheria procumbens L. Essential Oil: herbicidal, antioxidant and antibacterial activities. **Current Applied Science And Technology**, [S.L.], v. 23, n. 5, p. 2-13, 2 mar. 2023. King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang. <http://dx.doi.org/10.55003/cast.2023.05.23.009>.

JOVČIĆ, Branko *et al.* Genomic Characteristics of Colistin-Resistant Salmonella enterica subsp. enterica Serovar Infantis from Poultry Farms in the Republic of Serbia. **Antibiotics**, [S.L.], v. 9, n. 12, p. 886, 10 dez. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics9120886>.

KHAN, C. M. Anjam *et al.* The Dynamic Interactions between Salmonella and the Microbiota, within the Challenging Niche of the Gastrointestinal Tract. **International Scholarly Research Notices**, [S.L.], v. 2014, p. 1-23, 10 jul. 2014. Hindawi Limited. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/846049>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4897363/>. Acesso em: 01 jun. 2024.

KICH, Jalusa Deon *et al.* Salmonela na suinocultura brasileira: do problema ao controle. EMBRAPA, 2015. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/140876/1/final8030.pdf>. Acesso em: 21 maio 2023.

KIPPER, Diéssy *et al.* Recent Evolution and Genomic Profile of Salmonella enterica Serovar Heidelberg Isolates from Poultry Flocks in Brazil. **Applied And**

**Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 87, n. 21, p. 0-0, 14 out. 2021. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.01036-21>.

KOH, Youngho *et al.* Prevalence and Characteristics of Salmonella spp. Isolated from Raw Chicken Meat in the Republic of Korea. **Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 32, n. 10, p. 1307-1314, 8 set. 2022. Korean Society for Microbiology and Biotechnology. DOI: <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.2207.07031>. Disponível em: <https://www.jmb.or.kr/journal/view.html?doi=10.4014/jmb.2207.07031>. Acesso em: 01 jun. 2024.

LUZ, Isabelle da Silva *et al.* Evidence for Lack of Acquisition of Tolerance in Salmonella enterica Serovar Typhimurium ATCC 14028 after Exposure to Subinhibitory Amounts of Origanum vulgare L. Essential Oil and Carvacrol. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 78, n. 14, p. 5021-5024, 15 jul. 2012. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.00605-12>.

MELO, Roberta T. *et al.* Molecular Characterization and Survive Abilities of Salmonella Heidelberg Strains of Poultry Origin in Brazil. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 12, p. 0-0, 18 jun. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2021.674147>.

METHNER, Ulrich *et al.* Salmonella enterica subspecies enterica serovar Choleraesuis in a German wild boar population: occurrence and characterisation. **Acta Veterinaria Scandinavica**, [S.L.], v. 60, n. 1, p. 0-0, 29 out. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13028-018-0422-4>.

MOHAMED, Amal A. *et al.* Assessment of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oil and Extracts of Boswellia carteri Resin. **Ijppr**, Giza, v. 7, p. 502-509, abr. 2015.

NIU, Tong-Xin *et al.* Transcriptomic Analysis, Motility and Biofilm Formation Characteristics of Salmonella typhimurium Exposed to Benzyl Isothiocyanate Treatment. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 3, p. 1025-0, 4 fev. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21031025>.

NÓBREGA, Lara Mayanne Moreira de Oliveira *et al.* Evaluation of the Antibacterial Activity of Gaultheria procumbens Essential Oil Against Klebsiella pneumoniae Strains. **European Journal Of Medical And Health Sciences**, [S.L.], v. 5, n. 6, p. 33-37, 6 dez. 2023. European Open Science Publishing. <http://dx.doi.org/10.24018/ejmed.2023.5.6.1930>.

PENG, Mengfei *et al.* Alterations of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Antibiotic Resistance under Environmental Pressure. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 84, n. 19, p. 0-0, out. 2018. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.01173-18>.

PISSETTI, C.; WERLANG, G. O.; BIESUS, L. L.; KICH, J. D.; CARDOSO, M. R. de I. Detecção de *Salmonella enterica* e *Listeria monocytogenes* em carcaças suínas na etapa de pré-resfriamento. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 40, n. 2, p. 1071, 2012.

PREEDY, Victor R. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Londres: Academic Press, 2015.

PULFORD, Caisey V. *et al.* *Salmonella enterica* Serovar Panama, an Understudied Serovar Responsible for Extraintestinal Salmonellosis Worldwide. **Infection And Immunity**, [S.L.], v. 87, n. 9, p. 0-0, set. 2019. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.00273-19>.

ROZATTO, M. R. Determinação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos, frações e compostos isolados de *Arrabidaea brachypoda*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Faculdade de Ciências Farmacêutica, Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho", Araraquara. 2012.

SAKKAS, Hercules *et al.* Antimicrobial Activity of Basil, Oregano, and Thyme Essential Oils. **Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 429-438, 28 mar. 2017. Korean Society for Microbiology and Biotechnology. <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.1608.08024>.

SHAHADA, Francis *et al.* Molecular epidemiology of antimicrobial resistance among *Salmonella enterica* serovar Infantis from poultry in Kagoshima, Japan. **International Journal Of Antimicrobial Agents**, [S.L.], v. 28, n. 4, p. 302-307, out. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2006.07.003>.

SIDDIQUE, Abubakar *et al.* Draft genome sequences of 25 *Salmonella enterica* serovar Agona strains isolated from poultry and associated food products harbouring multiple antibiotic resistance genes. **Journal Of Global Antimicrobial Resistance**, [S.L.], v. 29, p. 131-135, jun. 2022. Elsevier BV. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2022.02.013>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213716522000479#bib0005>. Acesso em: 02 jun. 2024.

SREDNIK, Mariela E. *et al.* Antimicrobial resistance and genomic characterization of *Salmonella enterica* serovar Senftenberg isolates in production animals from the

United States. **Frontiers In Microbiology**, [S.L.], v. 13, n. 0, p. 0-0, 3 nov. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.979790>.

STEPHEN, Jerusha *et al.* First report of a multidrug-resistant *Salmonella enterica* Serovar Infantis carrying pESI megaplasmid isolated from marine shrimp in India. **Journal Of Global Antimicrobial Resistance**, [S.L.], v. 31, p. 248-251, dez. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2022.09.014>.

TKACZENKO, Halina *et al.* In vitro Antibacterial Efficacy of the Commercial Wintergreen (*Gaultheria procumbens* L.) Essential Oil against Some Gram-positive and Gram-negative Strains. **Agrobiodiversity For Improving Nutrition, Health And Life Quality**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 115-122, 2023. Slovak University of Agriculture in Nitra. <http://dx.doi.org/10.15414/ainhlq.2023.0013>.

THOMPSON, C. K. *et al.* Epidemiology and whole genome sequencing of an ongoing point-source *Salmonella* Agona outbreak associated with sushi consumption in western Sydney, Australia 2015. **Epidemiology And Infection**, [S.L.], v. 145, n. 10, p. 2062-2071, 2 maio 2017. Cambridge University Press (CUP). DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/s0950268817000693>.

VALDIVIESO-UGARTE, Magdalena *et al.* Antimicrobial, Antioxidant, and Immunomodulatory Properties of Essential Oils: a systematic review. **Nutrients**, [S.L.], v. 11, n. 11, p. 2786-0, 15 nov. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nu11112786>.

VILELA, Felipe Pinheiro *et al.* Genomic characterization of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis from Brazil reveals a swine gallbladder isolate harboring colistin resistance gene *mcr-1.1*. **Brazilian Journal Of Microbiology**, [S.L.], v. 53, n. 4, p. 1799-1806, 19 ago. 2022. Springer Science and Business Media LLC. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s42770-022-00812-3>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42770-022-00812-3#citeas>. Acesso em: 02 jun. 2024.

XU, Zhaojun *et al.* Characterization of ciprofloxacin-resistant and ESBL-producing *Salmonella enteric* serotype Derby in Eastern China. **Bmc Microbiology**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 0-0, 18 mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12866-019-1434-6>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6423743/>. Acesso em: 02 jun. 2024.

YAN, S Steve *et al.* An overview of *Salmonella* typing. **Clinical And Applied Immunology Reviews**, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 189-204, fev. 2004. Elsevier BV. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cair.2003.11.002>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1529104903000850?via%3Dihub#BIB17>. Acesso em: 01 jun. 2024.

YAO, Kuan *et al.* Complete Genome and Methylome Sequences of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Panama (ATCC 7378) and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Sloterdijk (ATCC 15791). **Genome Announcements**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 0-0, 28 abr. 2016. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/genomea.00133-16>.

YOKOYAMA, Eiji *et al.* Isolation of *Salmonella enterica* serovar Agona strains and their similarities to strains derived from a clone caused a serovar shift in broilers. **Journal Of Infection And Chemotherapy**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 71-74, jan. 2019. Elsevier BV. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiac.2018.07.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1341321X18301934#bib5>. Acesso em: 02 jun. 2024

YU, Jinyan *et al.* Prophage-mediated genome differentiation of the *Salmonella* Derby ST71 population. **Microbial Genomics**, [S.L.], v. 8, n. 4, p. 0-0, 26 abr. 2022. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/mgen.0.000817>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9453062/>. Acesso em: 02 jun. 2024.

YUAN, Xiaohui *et al.* Closely related *Salmonella* Derby strains triggered distinct gut microbiota alteration. *Gut Pathogens*, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 0-0, 25 jan. 2022. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13099-022-00480-6>.

ZHOU, Zhemin *et al.* Neutral Genomic Microevolution of a Recently Emerged Pathogen, *Salmonella enterica* Serovar Agona. **Plos Genetics**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 0-0, 18 abr. 2013. Public Library of Science (PLoS). DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1003471>. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1003471#s1>. Acesso em: 02 jun. 2024.

ZUCKERMANN, Federico A. *et al.* Bacillus-Based Direct-Fed Microbial Reduces the Pathogenic Synergy of a Coinfection with *Salmonella enterica* Serovar Choleraesuis and Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus. *Infection And Immunity*, [S.L.], v. 90, n. 4, p. 0-0, 21 abr. 2022. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/iai.00574-21>.