

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” – FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS
E ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA *Escherichia coli* E
Staphylococcus aureus: ESTUDO *IN VITRO***

Heloisa Cristina Brugnera

Zootecnista

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” – FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS
E ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA *Escherichia coli* E
Staphylococcus aureus: ESTUDO *IN VITRO***

Discente: Heloisa Cristina Brugnera

Orientadora: Profa. Dra. Marita Vedovelli Cardozo

Coorientador: Prof. Dr. Ruben Pablo Schocken-Iturrino

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre
em Microbiologia Agropecuária.**

B891a Brugnera, Heloisa Cristina

Atividade antimicrobiana de extratos vegetais e óleos essenciais contra
Escherichia coli e Staphylococcus aureus: estudo in vitro / Heloisa Cristina
Brugnera. -- Jaboticabal, 2026

38 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Ruben Pablo Schocken-Iturrino
Coorientadora: Marita Vedovelli Cardozo

1. Alternativas verdes. 2. Compostos naturais. 3. Microrganismos
patogênicos. 4. Resistência bacteriana. 5. Saúde Única. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Este trabalho avalia a atividade antimicrobiana e o potencial sinérgico *in vitro* de Extratos Vegetais de babosa, aroeira, carqueja e mamão, e Óleos essenciais de alecrim, andiroba, copaíba e melaleuca, frente a cepas de grande importância para a produção animal e para a Saúde Única: *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os resultados demonstram a capacidade bactericida dos quatro Extratos Vegetais contra ambas as cepas avaliadas. Os Óleos Essenciais de andiroba e copaíba apresentaram fraco efeito inibitório, enquanto o óleo de alecrim foi eficaz contra *E. coli* e o óleo de melaleuca mostrou ação sobre as duas cepas. Além disso, os testes de sinergismo indicaram que, embora esses compostos apresentem atividade individual, sua combinação pode resultar em efeito antagônico. Dessa forma, estes compostos destacam-se como alternativas promissoras para uso em desinfetantes ao longo da cadeia de produção animal, bem como na indústria de alimentos, a fim de controlar o crescimento bacteriano de *S. aureus* e *E. coli*.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This study evaluates the antimicrobial activity and *in vitro* synergistic potential of plant extracts from aloe vera, aroeira, carqueja, and papaya, as well as essential oils from rosemary, andiroba, copaiba, and tea tree, against strains of great importance to animal production and One Health, namely *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The results demonstrate the bactericidal capacity of all four plant extracts against both evaluated strains. The essential oils of andiroba and copaiba showed weak inhibitory effects, whereas rosemary oil was effective against *E. coli* and tea tree oil exhibited activity against both strains. In addition, synergy tests indicated that, although these compounds exhibit individual activity, their combination may result in antagonistic effects. Thus, these compounds stand out as promising alternatives for use in disinfectants along the animal production chain, as well as in the food industry, in order to control the bacterial growth of *S. aureus* and *E. coli*.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS E ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA *Escherichia coli* E *Staphylococcus aureus*: ESTUDO *IN VITRO*

AUTORA: HELOISA CRISTINA BRUGNERA

ORIENTADORA: MARITA VEDOVELLI CARDOZO

COORDENADOR: COORDENADOR: RUBEN PABLO SCHOCKEN ITURRINO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Microbiologia Agropecuária, pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 MARITA VEDOVELLI CARDOZO
Data: 24/02/2026 10:50:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. MARITA VEDOVELLI CARDOZO (Participação Presencial)
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
 MARIA EMILENE MARTINO CAMPOS GALVAO
Data: 24/02/2026 14:05:56-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. MARIA EMILENE MARTINO CAMPOS-GALVÃO (Participação Virtual)
Departamento de Microbiologia / Universidade Federal de Viçosa (UFV) - Viçosa/MG

Documento assinado digitalmente
 LILIAN CRISTINA MAKINO
Data: 24/02/2026 18:03:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. LILIAN CRISTINA MAKINO (Participação Virtual)
Departamento de Recursos Pesqueiros e Aquicultura / FCAVR UNESP Registro

Jaboticabal, 24 de fevereiro de 2026.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

HELOISA CRISTINA BRUGNERA – Nasceu em 24 de agosto de 1999, no município de São Carlos, estado de São Paulo, Brasil. Em fevereiro de 2019 ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV / UNESP, Câmpus de Jaboticabal – SP, e recebeu o título de Zootecnista em 29 de fevereiro de 2024. Em 04 de março de 2024 ingressou no Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agropecuária nível de Mestrado Acadêmico na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV / UNESP, Câmpus de Jaboticabal – SP.

*"Faça o teu melhor, na condição que você tem,
enquanto você não tem condições melhores
para fazer melhor ainda."*

(Mario Sergio Cortella)

AGRADECIMENTOS

À Deus, que sempre foi e continua sendo meu alicerce a cada momento, e me manteve firme no propósito todas as vezes que pensei que não seria capaz.

Aos meus pais, por todo o esforço que sempre fizeram e fazem por mim, por todo o apoio e compreensão de sempre. Obrigada por serem os melhores!

Ao meu companheiro de vida, por toda paciência, cuidado e apoio, por cada abraço depois de um dia ou uma semana ruim e por vibrar a cada vitória comigo, desde as menores até as maiores conquistas.

Aos meus amigos, por todos os momentos de distração e diversão, mesmo em meio aos momentos caóticos que vivemos durante esses anos.

À minha Orientadora, por sempre estar presente, por todas as partilhas de conhecimento e momentos. Obrigada pela compreensão em cada um dos momentos mais difíceis, e pelos risos nos momentos de sucesso.

Ao meu coorientador, por toda a partilha de conhecimentos – pessoais e profissionais – e pela questão da presença, mesmo nos momentos mais frágeis de saúde.

Aos membros da banca de qualificação e de defesa, que foram escolhidos cuidadosamente, em busca de contribuições valiosas para este trabalho

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), pela oportunidade e estrutura oferecida para a execução do Mestrado.

Ao Laboratório de Biotecnologia e Resistência Bacteriana (BIOBAC), pela oportunidade e por toda a estrutura disponibilizada para que este trabalho fosse executado da melhor maneira possível. Obrigada pelo companheirismo de sempre e pela amizade de cada um. É muito bom tê-los como família no nosso dia a dia.

Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processo: 131502/2024-7) e pela Capes - O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Obrigada!

SUMÁRIO

Página

RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Produção e Sanidade Animal.....	2
2.2. Uso de antimicrobianos e resistência.....	3
2.3. Alternativas.....	5
2.4. Extratos vegetais e Óleos essenciais.....	6
3. OBJETIVOS	
3.1. Objetivo Geral.....	8
3.2. Objetivos específicos.....	8
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
4.1. Bactérias e Produtos.....	9
4.2. Ensaio de Atividade Antimicrobiana.....	9
4.2.1. Teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM)	10
4.2.2. Teste de Concentração Bactericida Mínima (CBM)	10
4.2.3. Análise de cinética de morte.....	11
4.3. Teste de sinergismo.....	11
4.4. Estatística.....	12
5. RESULTADOS.....	12
5.1. Concentração Inibitória e Bactericida Mínima.....	12

5.2. Ação sobre a cinética de morte.....	13
5.3. Efeito sinérgico entre extratos vegetais e óleos essenciais.....	15
6. DISCUSSÃO.....	19
7. CONCLUSÃO.....	22
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS E ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA *Escherichia coli* E *Staphylococcus aureus*: ESTUDO *IN VITRO*

RESUMO – O uso indiscriminado de antimicrobianos como aditivos promotores de crescimento (APCs) na produção animal favorece a seleção e disseminação de bactérias patogênicas, bem como de seus genes de resistência, configurando uma preocupação para a Saúde Única. Como alternativa, a ciência tem investigado extratos vegetais (EVs) e óleos essenciais (OEs), que apresentam ação antimicrobiana natural. Desta forma, este trabalho avaliou o potencial antimicrobiano dos EVs de babosa (*Aloe barbadensis*), aroeira (*Schinus* spp.), carqueja (*Baccharis trimera*) e mamão (*Carica papaya*), e dos OEs de andiroba (*Carapa guianensis*), alecrim (*Salvia rosmarinus*), copaíba (*Copaifera* spp.) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) contra *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) foram determinadas seguindo o protocolo estabelecido pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). A cinética de morte foi avaliada nos tempos 0h, 5h, 10h, 24h e 48h em diferentes concentrações. Os extratos com melhores resultados foram selecionados para testes de sinergismo. Todos os EVs e os OEs de alecrim e melaleuca apresentaram ação antimicrobiana contra ambos os microrganismos, enquanto os OEs de andiroba e copaíba não exibiram efeito bactericida ou bacteriostático. As combinações avaliadas mostraram efeito antagônico apenas contra *S. aureus*. Os resultados de CIM e CBM estão de acordo com dados recentes da literatura, na cinética de morte foi detectada ação bacteriostática prolongada do extrato de mamão, e as combinações testadas são inéditas. O antagonismo observado pode estar relacionado à redução ou inativação de componentes ativos quando combinados. Concluiu-se que dos EVs avaliados, apenas os OEs de andiroba e copaíba não apresentaram efeito bactericida quando isolados; entretanto, o uso de compostos naturais de forma combinada pode apresentar efeito antagônico.

Palavras-chave: alternativas verdes, compostos naturais, microrganismos patogênicos, resistência bacteriana, Saúde Única.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS AND ESSENTIAL OILS AGAINST *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus*: AN *IN VITRO* STUDY

ABSTRACT – The indiscriminate use of antimicrobials as growth-promoting additives (GPAs) in animal production favors the selection and dissemination of pathogenic bacteria, as well as their resistance genes, representing a concern for One Health. As an alternative, research has investigated plant extracts (PEs) and essential oils (EOs), which exhibit natural antimicrobial activity. Thus, this study evaluated the antimicrobial potential of PEs from aloe vera (*Aloe barbadensis*), aroeira (*Schinus* spp.), carqueja (*Baccharis trimera*), and papaya (*Carica papaya*), and EOs from andiroba (*Carapa guianensis*), rosemary (*Salvia rosmarinus*), copaiba (*Copaifera* spp.), and tea tree (*Melaleuca alternifolia*) against *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213). The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were determined according to the protocol established by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Time-kill kinetics were evaluated at 0 h, 5 h, 10 h, 24 h, and 48 h at different concentrations. Extracts with the best results were selected for synergy testing. All PEs and the EOs of rosemary and tea tree exhibited antimicrobial activity against both microorganisms, whereas the EOs of andiroba and copaiba showed no bactericidal or bacteriostatic effect. The evaluated combinations showed antagonistic effects only against *S. aureus*. The MIC and MBC results are consistent with recent literature; time-kill kinetics revealed prolonged bacteriostatic activity of the papaya extract, and the tested combinations are unprecedented. The observed antagonism may be related to the reduction or inactivation of active components when combined. It is concluded that, among the evaluated plant extracts, only the EOs of andiroba and copaiba do not exhibit bactericidal effects when used individually; however, the combined use of natural compounds may result in antagonistic effects.

Keywords: green alternatives, natural compounds, pathogenic microorganisms, bacterial resistance, One Health.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – CIM e CBM dos EVs e OEs.....	11
Tabela 2 – ICIF e classificação de interação do T1 e T2 contra <i>E. coli</i> (ATCC 25922) e <i>S. aureus</i> (ATCC 29213).....	14

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Cinética de morte de EVs e OEs contra <i>E. coli</i> (ATCC 25922).....	12
Figura 2 – Cinética de morte de EVs e OEs contra <i>S. aureus</i> (ATCC 29213).....	13
Figura 3 – Relação entre a Concentração Média dos Extratos e a Densidade Óptica (DO595) por Tratamento. Concentração média = {(Concentração extrato 1 + Concentração extrato 2) /2} vs. densidade óptica (DO595).....	14
Figura 4a – DO595 em relação ao T1 em <i>E. coli</i>	15
Figura 4b – DO595 em relação ao T2 em <i>E. coli</i>	15
Figura 5a – DO595 em relação ao T1 em <i>S. aureus</i>	15
Figura 5b – DO595 em relação ao T2 em <i>S. aureus</i>	15
Figura 6 – Distribuição da Densidade Óptica (DO595 nm) por Classificação ICIF por microrganismos avaliado (<i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>).....	17

1. INTRODUÇÃO

A agropecuária mundial passou por diversas e grandes transformações; simultânea e rapidamente (MAPA, 2023). O Brasil está dentre os principais produtores e exportadores globais de carne de frango, bovina e suína, leite e tilápia, o que tem proporcionado o crescimento econômico do país (ABPA, 2025; Cunha; Paulo; Nogueira Biscola, 2023; FAO, 2023; Gustafsson et al., 2022). No entanto, problemas de sanidade animal afetam a produção e consequentemente, a abordagem de Saúde Única (Al Hakeem et al., 2022).

O crescimento populacional previsto até 2050 realça a necessidade de ampliação da produção agropecuária. Para isso existem duas opções: a expansão da área de produção e o aumento do rendimento da produção (Tian et al., 2021). Com isso, iniciou-se o uso de aditivos promotores de crescimento (APCs), dentre eles, alguns antimicrobianos, visando aumentar a produtividade animal sem a necessidade de expansão territorial (Marcello, 2001). Porém, no Brasil, o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) vem proibindo a importação, fabricação, comercialização e uso destas substâncias, desde 2012; em virtude da percepção de que o uso indiscriminado de antimicrobianos em animais tem sido a principal razão para a seletividade e difusão da resistência (Zhang et al., 2022). Entretanto, em razão das vantagens econômicas consequentes dessa prática, frequentemente, algumas drogas proibidas e substâncias não comestíveis, ainda são utilizadas ilegalmente (Girmatsion et al., 2021; Liu et al., 2022).

Desde a introdução destas limitações iniciou-se uma busca por substâncias alternativas ao uso desses antimicrobianos. Com isso, despertou-se o interesse em estudos sobre o uso de bactérias com características probióticas, de taninos e, principalmente, Extratos Vegetais (EVs) e Óleos Essenciais (OEs) (Arsène et al., 2021). As alternativas verdes se destacam por serem produtos naturais, capazes de prevenir e/ou controlar infecções, nas quais podem ser suplementadas nas dietas dos animais fornecendo benefícios em relação a eficiência da produção animal (Mirzaei-Alamouti et al., 2021; Zúñiga-Serrano et al., 2022).

Alguns estudos avaliaram EVs para rações e os consideraram substitutos dos APCs. Devido à sua complexa composição química e serem proveniente de diferentes

componentes, estes extratos podem ser uma nova alternativa, visto que têm uma menor chance de desenvolvimento de resistência pelos microrganismos (Akram; Asghar; Jalal, 2021; Arbab et al., 2022; Dilipkumar; Padum, 2023).

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antimicrobiano e determinar a ocorrência de sinergismo ou antagonismo entre diferentes combinações de Extratos Vegetais; dentre eles: babosa, aroeira, carqueja e mamão, além de Óleos Essenciais de andiroba, alecrim, copaíba e melaleuca *in vitro*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Produção e Sanidade Animal

O Brasil tem crescido substancialmente nos últimos anos no comércio agropecuário, que representa o principal setor exportador e é um dos grandes responsáveis pelo crescimento econômico do país. Enquanto em 2020 o superávit do agronegócio foi de US\$ 87,76 bilhões, os dados de 2025 revelam um salto expressivo para US\$ 149,07 bilhões, mantendo sua participação de 48,5% na exportação nacional. (Brasil, 2026; Gustafsson et al., 2022).

Dentro da agropecuária, há um destaque para os produtos de origem animal. No ranking mundial, em 2025, o Brasil foi o 1º maior produtor de carne bovina, o 2º maior produtor de carne de frango e o 4º maior produtor de carne suína e de leite (ABPA, 2025; USDA, 2025a, 2025b). Além disso, o país é o 4º maior produtor de tilápia, com potencial e ambiente ideal para alcançar uma alta produtividade (Miranda et al., 2025).

Entretanto, problemas na sanidade desses animais causam grande impacto negativo na produção, em quantidade, bem como em qualidade, além dos riscos à saúde única, afetando o comércio interno e externo. Segundo Nazari Moghadam et al. (2023), a *Salmonella* não tifoide é um microrganismo patogênico de grande importância na avicultura, com potencial zoonótico, que anualmente causa cerca de 153 milhões de casos de gastroenterites e 57 mil mortes no mundo. Outra bactéria que preocupa os produtores é a *Campylobacter jejuni* que é a principal causa de

doenças de origem alimentar humana associadas ao consumo de aves, carne bovina e suína (Al Hakeem et al., 2022).

Ainda, no setor leiteiro, as bactérias do gênero *Staphylococcus* necessitam de atenção, pois além de causar danos à saúde dos animais, queda na produção de leite e prejuízos com tratamentos, ainda podem causar intoxicações alimentares se o leite não for devidamente processado no laticínio (Mello et al., 2020). Na aquicultura, também há preocupação com microrganismos zoonóticos, como por exemplo, a *Aeromonas hydrophila* que causa septicemia hemorrágica em peixes - podendo matar de 80 a 100% dos animais em até 2 semanas - e gastroenterites em humanos (Dorick et al., 2023).

Diante das preocupações, dos produtores e veterinários, com as principais doenças de cada setor e do impacto econômico que elas causam, é comum o uso indiscriminado de antimicrobianos, fato que promove uma maior frequência da resistência dos patógenos aos medicamentos, afetando a saúde humana, animal e ambiental. O estudo global do projeto GRAM (*Global Research on Antimicrobial Resistance*), estimou que entre 1990 e 2021 ocorreu uma média de 4,8 milhões de mortes, anualmente, associadas à resistência bacteriana. As projeções indicam que esse impacto continuará crescendo, podendo ultrapassar 8,2 milhões de mortes anuais até 2050 (Naghavi et al., 2024).

2.2. Uso de antimicrobianos e resistência

Com o aumento populacional mundial nas últimas décadas e a previsão da população totalizar 9,3 bilhões de pessoas até 2050, faz-se necessário o aumento proporcional na produção agropecuária. Ainda, as mudanças nos padrões alimentares e a preferência por alimentos de origem animal, intensifica a demanda de maior produtividade dentro desse setor. Para o aumento da produção de alimentos, existem duas opções: (1) expansão da área de produção e (2) aumento do rendimento da produção (Tian et al., 2021).

Devido a isso, iniciou-se o uso de APCs, dentre eles, alguns antimicrobianos, desde 1946, com a finalidade de aumentar a produtividade animal sem a necessidade de expansão territorial (MOORE; EVENSON, 1946). Entretanto, desde a década de

70, começou a ser implementado o uso de probióticos como alternativa aos APCs, marcando o início das interdições do uso de alguns medicamentos para essa finalidade (Land, 1973).

Atualmente, um dos principais problemas relacionados à segurança do alimento é o uso dessas substâncias, como APCs e como profilático. Devido às vantagens econômicas consequentes dessa prática, frequentemente, algumas drogas proibidas e substâncias não comestíveis, ainda são utilizadas ilegalmente, como por exemplo: enrofloxacina e nitrofurazona (Girmatsion et al., 2021; Liu et al., 2022).

O uso de antimicrobianos promotores de crescimento foi proibido na Europa em 2006. Posteriormente, também houve uma diminuição e proibição do uso de alguns desses medicamentos, em níveis subterapêuticos, nos EUA e na China (Zhang et al., 2022). De acordo com as Instruções Normativas nº 14/2012, nº 45/2016 e nº 1/2020, do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), a lista de substâncias antimicrobianas proibidas no Brasil para importação, fabricação, comercialização e uso como aditivos zootécnicos melhoradores de desempenho tem sido progressivamente ampliada. Essas normativas restringem uso de diversos medicamentos, incluindo espiamicina, eritromicina, sulfato de colistina, tilosina, lincomicina, tiamulina e outros (MAPA, 2012, 2016, 2020). Tais proibições e recomendações são feitas pelo MAPA, que segue rigorosamente as sugestões do *Codex Alimentarius* - criado em 1962, pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura e a Organização Mundial da Saúde (FAO/OMS), visando facilitar relações de comércio internacional, desenvolvendo padrões alimentares de referência (Haese; Silva, 2004; Villanova; Guedes; Severi, 2014).

A proibição do uso desses aditivos passou a ser necessária devido à percepção de que o uso abusivo destes em animais de produção tem sido a principal razão para a seletividade e difusão da resistência aos antimicrobianos, que se tornou um problema mundial. Alimentos contaminados com microrganismos resistentes têm causado infecções graves; com cerca de 2 milhões de pessoas recebendo tratamentos para infecções resistentes, anualmente (Zhang et al., 2022). Além disso, há alguns anos foram descobertas as chamadas “superbactérias” – organismos multirresistentes aos antimicrobianos, ou seja, apresentam resistência simultânea a três ou mais classes de antimicrobianos. Consequentemente, a demanda por

alternativas a esses fármacos está crescente; sendo, uma delas, a exploração do potencial bactericida de EVs (Uruén et al., 2022).

2.3. Alternativas

Desde o início das limitações ao uso de antimicrobianos como APCs, e a compreensão dos prejuízos que estes podem causar a longo prazo, na produção animal e na saúde humana, iniciou-se uma busca por substâncias alternativas ao uso desses medicamentos, tanto em sua função de promotor de crescimento, como na ação bactericida. Com isso, despertou-se o interesse em estudos sobre o uso de bactérias com características probióticas, de taninos e de outros EVs e OEs nas dietas dos animais (Arsène et al., 2021).

Probióticos são suplementos nutricionais compostos por microrganismos vivos capazes de proporcionar benefícios ao hospedeiro, tais como: melhor digestibilidade, proteção contra estresse fisiológico, redução do crescimento de bactérias patogênicas e estímulo da capacidade antioxidante e do sistema imunológico. Consequentemente, os probióticos promovem melhor desempenho na produção e redução da incidência de doenças gastrointestinais e infecções (Melara et al., 2022; Tran et al., 2023).

Dentre tantos microrganismos com características probióticas, os principais utilizados são os dos gêneros: *Lactobacillus*, *Pediococcus* e *Enterococcus*; entretanto, recentemente houve um aumento no uso de bactérias do gênero *Bacillus*, devido às suas características diferenciais, Gram-positivas esporuladas, que lhe conferem maior resistência à temperatura e acidez do meio ambiente (Melara et al., 2022).

Taninos são um grupo heterogêneo de compostos polifenólicos de ocorrência natural amplamente presentes em plantas. Antigamente eram conhecidos como fatores antinutricionais, por serem utilizados de maneira e em concentrações inadequadas na alimentação dos animais. Atualmente, com o conhecimento do seu potencial antimicrobiano, antiviral, antiparasitário, anti-inflamatório, antioxidante e imunomodulador, são uma alternativa de uso na alimentação; capazes de melhorar a eficiência da produção animal (Fonseca et al., 2023; Hassan et al., 2020; Pandey et al., 2022).

Os EVs são produtos obtidos após o tratamento de uma matéria-prima natural (caules, folhas, sementes e frutos) com um solvente, seguido de filtração e remoção do solvente por destilação. Já os OEs são líquidos voláteis obtidos de qualquer parte de uma planta (folhas, frutos, cascas, raízes e sementes) por destilação (Ferraz et al., 2022). Essas substâncias têm sido amplamente investigadas como alternativas naturais para a prevenção e controle de infecções, pois apresentam metabólitos secundários com atividade antimicrobiana. Demonstram potencial de aplicação em ruminantes, monogástricos e organismos aquáticos e, quando associadas a outros aditivos alimentares, podem atuar como promotores de crescimento (Mirzaei-Alamouti et al., 2021; Zúñiga-Serrano et al., 2022). Além disso, a adição de probióticos e EVs como suplemento na dieta de ruminantes tem sido utilizada como medida para mitigação da produção de metano entérico (Ibrahim; Hassen; Apostolides, 2022).

No presente, é incalculável a quantidade de EVs com potenciais medicinais conhecidos. Dentre eles, os extratos de babosa, aroeira, carqueja e mamão, além de OEs de andiroba, alecrim, copaíba e melaleuca apresentam grande potencial bactericida, anti-inflamatório, anticarcinogênico, antioxidante, entre outros (Altinkaynak et al., 2023; Dias et al., 2022; El-Nashar et al., 2021; Frazão et al., 2023; Gazwi; Mahmoud; Hamed, 2020; Melo et al., 2021; Sharma et al., 2022; Ximenes et al., 2022; Yasin et al., 2021).

2.4. Extratos vegetais e Óleos essenciais

Recentemente, houve um aumento na quantidade de pesquisas com a utilização de plantas medicinais, em busca de produtos naturais como terapêuticos antimicrobianos. Um artigo de revisão publicado em 2021, que analisou estudos conduzidos *in vitro*, *in situ* e *in vivo*, demonstrou que diversos trabalhos avaliaram o uso de aditivos naturais, como EVs e OEs, para rações e os consideraram alternativas viáveis aos APCs. Esses resultados se devem ao fato de tais substâncias serem ricas em compostos bioativos e apresentarem atividade antimicrobiana comprovada, contribuindo para a melhoria da produtividade e da saúde animal (Akram; Asghar; Jalal, 2021). Devido à sua complexa composição química e serem provenientes de diferentes componentes, estes extratos podem ser uma nova alternativa, visto que

têm uma menor chance de desenvolvimento de resistência pelos microrganismos (Arbab et al., 2022; Dilipkumar; Padum, 2023). Dentre os diversos extratos já descritos na literatura, este estudo selecionou para avaliação os EVs de babosa, aroeira, carqueja e mamão, além dos OEs de andiroba, alecrim, copaíba e melaleuca, em função de seus potenciais efeitos antimicrobianos previamente relatados.

A babosa possui uma folha composta por carboidratos, proteínas, vitaminas, minerais, lipídios, aminoácidos essenciais, polissacarídeos, polipeptídeos e antioxidantes; o que lhe confere propriedades anticancerígenas, antivirais e antibacterianas, além de forte efeito anti-inflamatório (Altinkaynak et al., 2023; Fehrmann-Cartes et al., 2022). A aroeira é fonte de diversos compostos bioativos. Os extratos brutos dessas plantas possuem atividades biológicas muito promissoras; dentre elas: atividades antimicrobianas, inseticidas e repelentes, antiparasitária, analgésica, antitumorais, antioxidante, anti-inflamatória, cicatrizante, antialérgica, antiviral, anti-helmíntica, hepatoprotetora, entre outras (El-Nashar et al., 2021).

A carqueja (*Baccharis trimera*) – nativa da América do Sul – é recomendada pela Farmacopeia Brasileira por suas propriedades medicinais, sendo tradicionalmente utilizada em casos de problemas gastrointestinais, pulmonares, cardiovasculares e respiratórios. Na literatura têm diversas finalidades terapêuticas citadas: propriedades antioxidantes, antiulcerogênicas, hepatoprotetora, anti-inflamatórias e antiadipogênicas (Giordani et al., 2021; Mendes et al., 2021; Ximenes et al., 2022). Já a papaína – enzima proteolítica presente na *Carica papaya* – é muito utilizada devido às suas propriedades anticancerígenas, antimicrobianas, anti-inflamatórias, antioxidantes, hepatoprotetora, analgésicas e cicatrizantes (Kong et al., 2021; Sharma et al., 2022; Singh et al., 2020; Timbadiya; Singh; Rohilla, 2023).

Já os óleos vegetais apresentam características que os tornam mais seguros e compatíveis com a pele, quando incluídos em formulações tópicas, em comparação aos óleos minerais. O óleo de andiroba apresenta melhor estabilidade em emulsões do que outros óleos; além disso, proporciona alta penetração na pele, com potencial hidratante, regenerador, anti-inflamatório, antialérgico, antioxidante e anticarcinogênico (Ferreira et al., 2022; Melo et al., 2021; Said dos Santos et al., 2020). Na literatura, o óleo de alecrim é muito utilizado em estudos devido as suas propriedades medicinais. Esta planta possui fortes propriedades antioxidantes, além

de atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antidepressivas, antidiabéticas e anticancerígenas (Fadlalla; Galal, 2020; Gazwi; Mahmoud; Hamed, 2020; Jahanfar et al., 2021, 2023).

O óleo de copaíba tem se mostrado um bioativo valioso, utilizado na medicina popular há séculos como anti-inflamatório, cicatrizante, antisséptico urinário e tratamento de úlceras, bronquite e câncer. É utilizado como matéria-prima para a produção de antitetânicos, antissépticos do sistema urinário, antitussígenos e cicatrizantes; sendo uma excelente alternativa a alguns medicamentos devido à sua eficiência, baixa toxicidade, biocompatibilidade e baixo custo (Frazão et al., 2023; Silva et al., 2022). Ademais, algumas espécies do gênero *Melaleuca* (*M. alternifolia*, *M. cajuputi*, *M. brateata* e *M. quinquernevia*) estão sob uso comercial para produção de óleo essencial. O óleo dessa planta foi utilizado por soldados durante a Segunda Guerra Mundial, como antimicrobiano geral e repelente de insetos. Na literatura, vários estudos mostram que este óleo possui bioatividade múltipla, contendo propriedades citotóxicas, antifúngicas, antiviral, anti-inflamatórias, antimicrobianas, inseticidas e antioxidantes (Kholiya et al., 2023; Yasin et al., 2021).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar o potencial antimicrobiano e a capacidade de um efeito sinérgico de Extratos Vegetais e Óleos Essenciais, frente à cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, que são microrganismos de grande importância na produção animal.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos Extratos Vegetais de babosa, aroeira, carqueja e mamão;

- Avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos Óleos Essenciais de andiroba, alecrim, copaíba e melaleuca;
- Analisar a cinética de morte dos Extratos Vegetais de babosa, aroeira, carqueja e mamão;
- Analisar a cinética de morte dos Óleos Essenciais de andiroba, alecrim, copaíba e melaleuca;
- Determinar se há sinergia entre combinações de diferentes extratos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Bactérias e Produtos

Foram avaliados quatro EVs – babosa (*Aloe barbadensis*), aroeira (*Schinus* spp.), carqueja (*Baccharis trimera*) e mamão (*Carica papaya*) – e quatro OEs – andiroba (*Carapa guianensis*), alecrim (*Salvia rosmarinus*), copaíba (*Copaifera* spp.) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) – todos de origem comercial e cedidos pela empresa Equine Basic®.

A atividade antimicrobiana foi avaliada utilizando duas cepas bacterianas de relevância em Saúde Única: *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213). As cepas foram reativadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) (Kasvi®, Pinhais, PR, Brasil) e posteriormente cultivadas em ágar BHI, incubadas a 37 °C por 20 ± 2 horas. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

4.2. Ensaios de Atividade Antimicrobiana

Os ensaios para avaliação da atividade antimicrobiana foram realizados seguindo os padrões estabelecidos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2025).

4.2.1. Teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM)

O teste de susceptibilidade aos antimicrobianos foi realizado, em triplicata, pela técnica de CIM. Em cada placa de microdiluição de 96 poços, a primeira linha (A) foi destinada ao controle de branco, na qual os poços corresponderam às diferentes concentrações testadas em cada coluna, contendo apenas meio de cultura e produto, sem adição de suspensão bacteriana. Nos demais poços, das colunas de 2 a 10, foram distribuídos 50 µL de Caldo Mueller Hinton cátion ajustado (CAMHB, Sigma-Aldrich®, Burlington, MA, EUA) (concentração dupla). A 11ª e 12ª colunas, foram consideradas controle negativo e positivo, respectivamente; sendo a primeira apenas CAMHB; e a segunda CAMHB e inóculo bacteriano. Posteriormente, 100 µL de extrato bruto foi adicionado à coluna 1 e 50 µL transferidos à coluna 2, homogeneizado e transferida uma alíquota de 50 µL para a coluna 3, e assim, sucessivamente, por diluição dupla seriada, até a coluna 10; obtendo-se então concentrações que variaram entre 50 e 0,1% (v/v) de cada extrato vegetal, e entre 2 e 0,01% (v/v) de cada óleo essencial. Os óleos foram usados em menores concentrações – a partir de 2% (v/v) - devido à dificuldade de homogeneização destes com o meio de cultura, sendo necessária a diluição com auxílio de emulsificante – neste caso, utilizou-se Tween 80 (1%) (Rodrigues et al., 2025). Em seguida, foi adicionada uma alíquota de 50 µL do inóculo (5×10^5 UFC/mL) e foi incubada de acordo com o metabolismo de cada cepa avaliada (CLSI, 2025). A leitura foi feita com leitor de microplacas iMark™ (Bio-Rad, EUA) e filtro de 595 nm. A CIM foi definida como a menor concentração de cada EV e OE, capaz de inibir o crescimento microbiano, com base nos valores da Densidade Óptica (DO) 595 nm.

4.2.2. Teste de Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Após a determinação da CIM, os poços nos quais não foram notados crescimento bacteriano visível foram inoculados com alça de 1µL, através de semeadura por esgotamento, em placas de ágar BHI e incubados a 37°C por 24 horas, para análise de presença ou ausência de crescimento microbiano. A CBM foi definida

como a menor concentração dos EVs e OEs na qual não foi identificado crescimento bacteriano após o período de incubação.

4.2.3. Análise de cinética de morte

A cinética de morte foi avaliada em triplicata, conforme protocolo publicado por Blondeau et al. (2012), com pequenas modificações. Brevemente, cada cepa testada foi semeada em Caldo Mueller Hinton (CMH) (OXOID®, Basingstoke, Reino Unido) e incubada por 2h a 37 °C, sob agitação (250 rpm) e condições aeróbias. Posteriormente, cerca de 10^6 UFC/ml da suspensão bacteriana foi inoculada em CMH suplementado com os diferentes produtos, em concentrações equivalentes a 8×, 4×, 2×, 1×, 0,5×, 0,25×, 0,125×, 0,0625× e 0,03125× a CBM – variando conforme o EV ou OE avaliado. As culturas foram incubadas a 37 °C sob agitação, e alíquotas de 100µL foram coletadas nos tempos 0 (antes da incubação), 5, 10, 24 e 48h. As amostras foram submetidas à diluição seriada (1:10) em microplaca de 96 poços, e 10 µL de cada poço foi semeado em Ágar Mueller Hinton (AMH) (Kasvi®, Pinhais, PR, Brasil). Após incubação a 37 °C, sob condições aeróbias, por 15 horas para *E. coli* e 20 horas para *S. aureus*, realizou-se a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) para determinação da atividade bactericida ao longo do tempo.

4.3. Teste de sinergismo

Com base nos resultados obtidos na CIM, CBM e cinética de morte, foram selecionados os EVs e o OE com os melhores resultados, para *E. coli* e *S. aureus*, e então definidas duas diferentes combinações denominadas: tratamento 1 – T1) extrato de mamão e extrato de carqueja – melhor ação individual frente a *S. aureus*; tratamento 2 – T2) extrato de aroeira e óleo de melaleuca– melhor ação individual frente a *E. coli*. O teste foi feito pela técnica do tabuleiro de xadrez, descrito por Rodrigues et al., (2025). A densidade óptica (DO) de 595 nm das combinações foi medida utilizando um leitor de microplacas iMark™ (Bio-Rad, EUA). O Índice de Concentração Inibitória Fracionada (ICIF) foi calculado usando a Equação (1); os

valores foram interpretados como: sinérgicos ($ICIF < 1$), indiferentes ($ICIF = 1$), comutativos ($1 < ICIF \leq 2$) ou antagônicos ($ICIF > 2$).

$$(1) ICIF = \frac{CBM^A \text{ combinado}}{CBM^A \text{ isolado}} + \frac{CBM^B \text{ combinado}}{CBM^B \text{ isolado}}$$

4.4. Estatística

As análises estatísticas foram conduzidas com o objetivo de comparar a eficácia das diferentes combinações de EVs e OEs sobre o crescimento de *E. coli* e *S. aureus*. Inicialmente, os dados de densidade óptica (DO595 nm) foram avaliados quanto à distribuição e homogeneidade das variâncias. Diante da ausência de normalidade, optou-se pelo emprego de métodos não paramétricos. Aplicou-se o teste de Kruskal–Wallis para verificar a existência de diferenças significativas entre os tratamentos, seguido pelo teste de comparações múltiplas de Wilcoxon pareado (pairwise Wilcoxon test) para identificar quais grupos diferiram entre si. Todos os testes foram realizados considerando um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As análises e a construção dos gráficos foram efetuadas no *software* R (versão 4.3.1, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria).

5. RESULTADOS

5.1. Concentração Mínima Inibitória e Bactericida

As análises do CIM apresentaram resultados satisfatórios para os EVs e para os óleos de Alecrim e Melaleuca. Os EVs foram mais eficientes contra *S. aureus*; enquanto os OEs foram melhores na inibição de *E. coli*. Nas análises de CBM, todos extratos apresentaram ação bactericida para ambas as bactérias, com maior eficiência frente a *S. aureus* (Tabela 1).

Tabela 1 – CIM e CBM dos EVs e OEs

Produto	CIM (%)		CBM (%)	
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 29213
EVs	Babosa	50,00	50,00	50,00
	Aroeira	1,56	1,56	3,13
	Carqueja	12,50	12,50	6,25
	Mamão	50,00	50,00	50,00
OEs	Andiroba	2,00	*	*
	Alecrim	2,00	2,00	*
	Copaíba	*	*	*
	Melaleuca	0,25	0,25	2,00

*: Não apresentou ação bactericida ou bacteriostática.

5.2. Ação sobre a cinética de morte

A análise da cinética de morte bacteriana revelou atividade bactericida expressiva para todos os compostos testados contra *E. coli* a partir de 5 horas de exposição. O EV de babosa promoveu tal ação em concentrações superiores a 0,5×CBM (25%) e demonstrou eficácia em 0,25×CBM (12,5%) após 24 horas. O EV de aroeira apresentou potencial análogo em concentrações acima de 2×CBM (3,13%), destacando-se por inibir o crescimento bacteriano durante 10 horas na concentração de 1×CBM (1,56%). Por sua vez, o EV de carqueja exibiu comportamento idêntico ao da babosa em concentrações superiores a 0,25×CBM (3,13%). Em contraste, o EV de mamão foi bactericida apenas em concentrações acima de 1×CBM (50%), mantendo potencial bacteriostático durante as 48 horas de análise em 0,5 e 0,25×CBM (25% e 12,5%). Quanto aos OEs, o de alecrim foi eficaz acima de 0,25×CBM (0,5%), enquanto o de melaleuca apresentou eficácia acima de 2×CBM (0,5%), apesar de manifestar potencial bacteriostático nas primeiras 5 a 10 horas em 0,5×CBM (0,12%) e 1×CBM (0,25%), respectivamente (Figura 1).

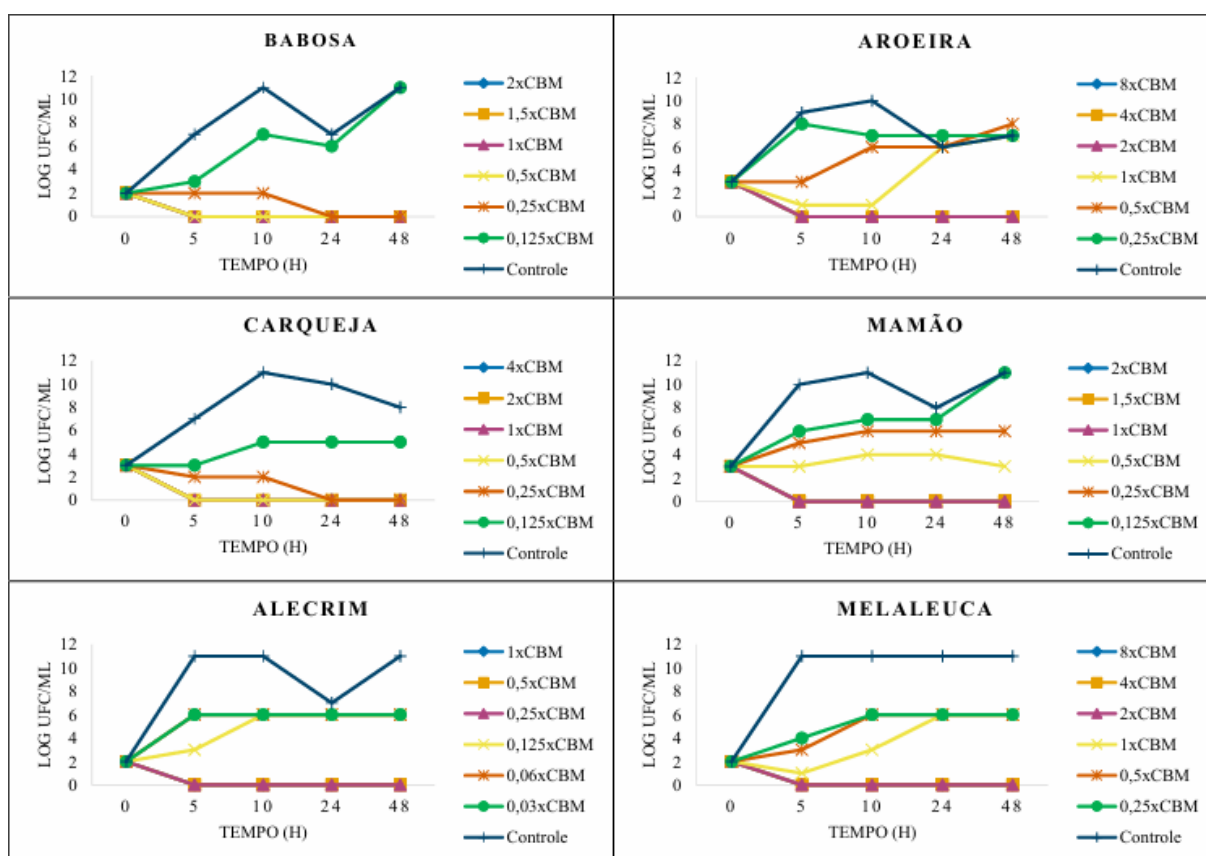


Figura 1 – Cinética de morte de EVs e OEs contra *E. coli* (ATCC 25922).

Perante o *S. aureus*, os compostos exibiram perfis de atividade distintos, embora a maioria tenha mantido o efeito bactericida no intervalo de 5 horas, com exceção do EV de aroeira. O EV de babosa atingiu este resultado em concentrações superiores a 1xCBM (50%) e mostrou-se eficaz em 0,5xCBM (25%) após 24 horas, além de evidenciar potencial bacteriostático pelo mesmo período a 0,25xCBM (12,5%). O EV de aroeira apresentou ação bactericida tardia — verificada apenas após 10 e 24 horas em concentrações superiores a 4xCBM (12,5%) e 2xCBM (6,25%), respectivamente — e demonstrou efeito bacteriostático em 1xCBM (3,13%). O EV de carqueja, por outro lado, exerceu atividade bactericida em concentrações acima de 1xCBM (6,25%) e potencial bacteriostático por 24 horas em 0,5 e 0,25xCBM (3,13% e 1,56%). O EV de mamão foi o único a apresentar comportamento semelhante contra ambas as cepas, com ação bactericida em concentrações superiores a 1xCBM (50%) e efeito bacteriostático por 48 horas em 0,5xCBM (25%). Por fim, o OE de melaleuca agiu em concentrações acima de 0,5xCBM (1%), além de

inibir o crescimento bacteriano durante 10 e 5 horas quando utilizado a 0,25×CBM (0,5%) e 0,125×CBM (0,25%), respectivamente (Figura 2).

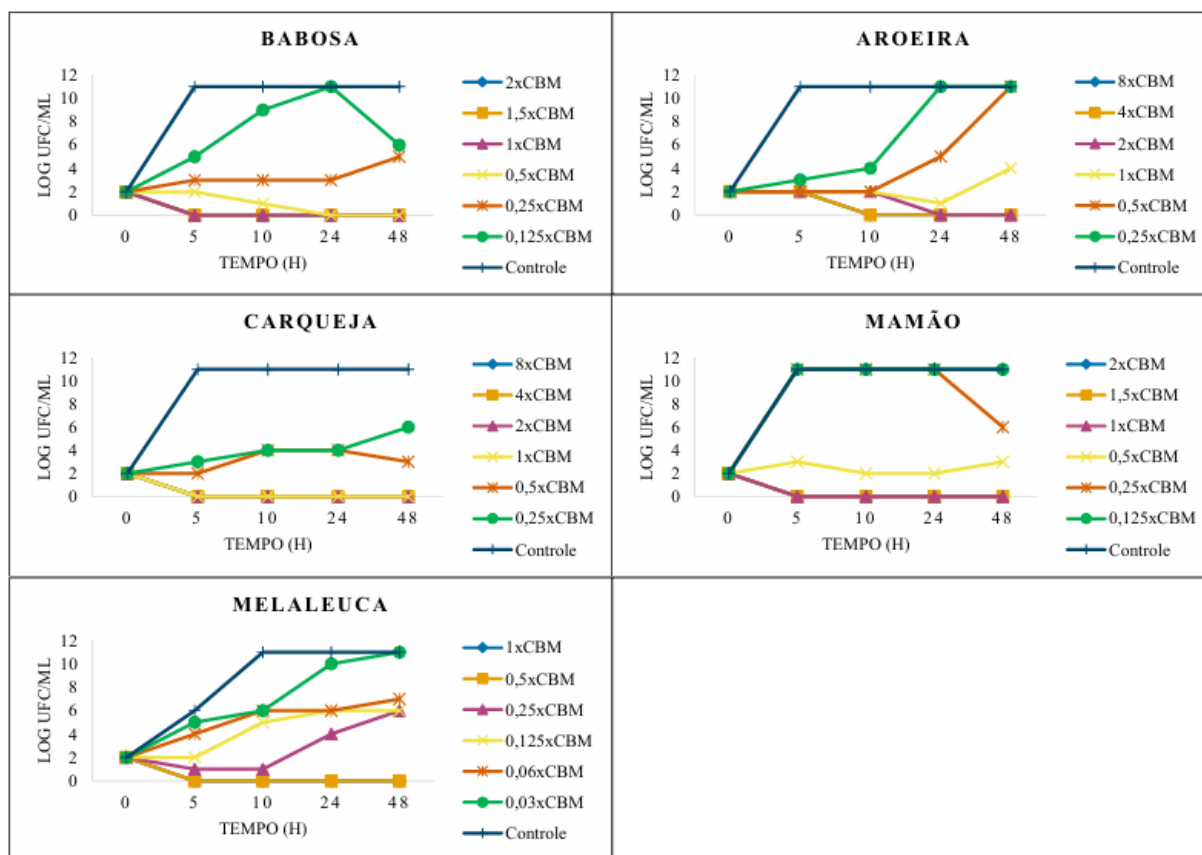


Figura 2 – Cinética de morte de EVs e OEs contra *S. aureus* (ATCC 29213).

5.3. Efeito sinérgico entre extratos vegetais e óleos essenciais

Ao avaliar os tratamentos 1 (Mamão e carqueja) e 2 (Aroeira e melaleuca), observou-se que os valores de ICIF variaram de 1 até 4,5 (Tabela 2). Estes apresentaram interações bastante diferentes contra as cepas testadas; quando usadas contra *E. coli*, o T1 foi indiferente, enquanto o T2 foi comutativo. Já para *S. aureus*, ambos se mostraram antagônicos.

Tabela 2 – ICIF e classificação de interação do T1 e T2 contra *E. coli* (ATCC 25922) e *S. aureus* (ATCC 29213).

Microrganismo	Tratamento	ICIF	Classificação
<i>E. coli</i>	1	1	Indiferente
	2	2	Comutativo
<i>S. aureus</i>	1	2,5	Antagônico
	2	4,5	Antagônico

Ao observar a Figura 3, nota-se uma tendência clara de redução da DO595 nm conforme o aumento da concentração média para o T2, indicando maior eficácia antimicrobiana com o aumento da dose. Em contraste, o T1 manteve valores relativamente maiores de OD595 nm, sugerindo menor sensibilidade à variação da concentração dentro do intervalo testado.

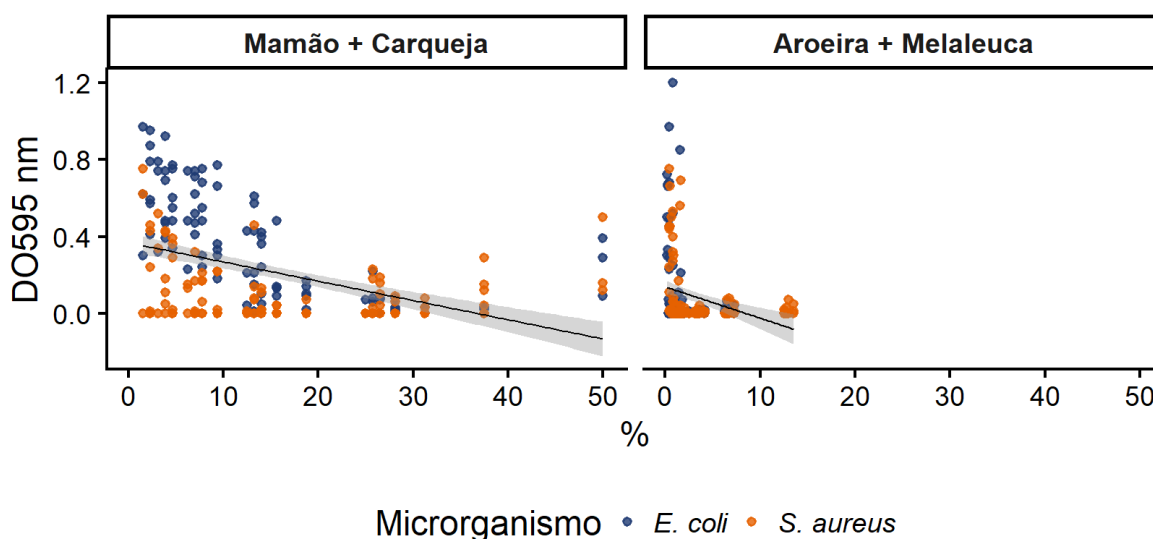


Figura 3 – Relação entre a Concentração Média dos Extratos e a Densidade Óptica (DO595nm) por Tratamento. Concentração média = {(Concentração extrato 1 + Concentração extrato 2) / 2} vs. densidade óptica (DO595).

Ao comparar os tratamentos (Figuras 4a, 4b e 5a, 5b), os dados de DO595 nm mostraram que T2 apresentou valores sistematicamente menores do que T1. Essa diferença entre os tratamentos foi estatisticamente significativa (Kruskal-Wallis: $p = 1.8 \times 10^{-12}$; pairwise Wilcoxon: $p < 1.5 \times 10^{-11}$).

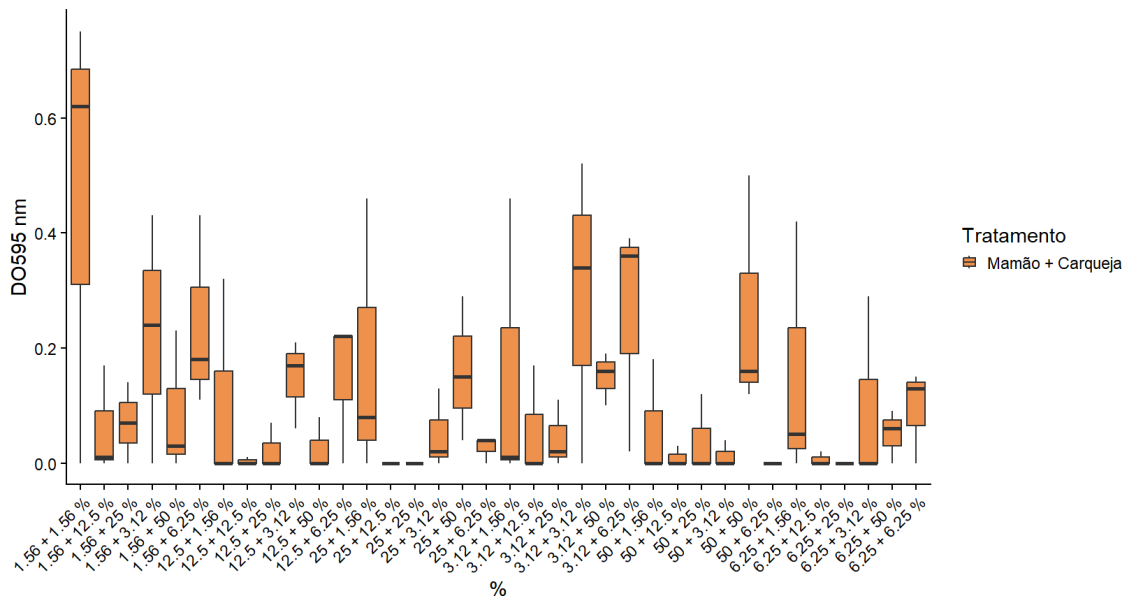


Figura 5a – DO595 em relação ao T1 em *S. aureus*

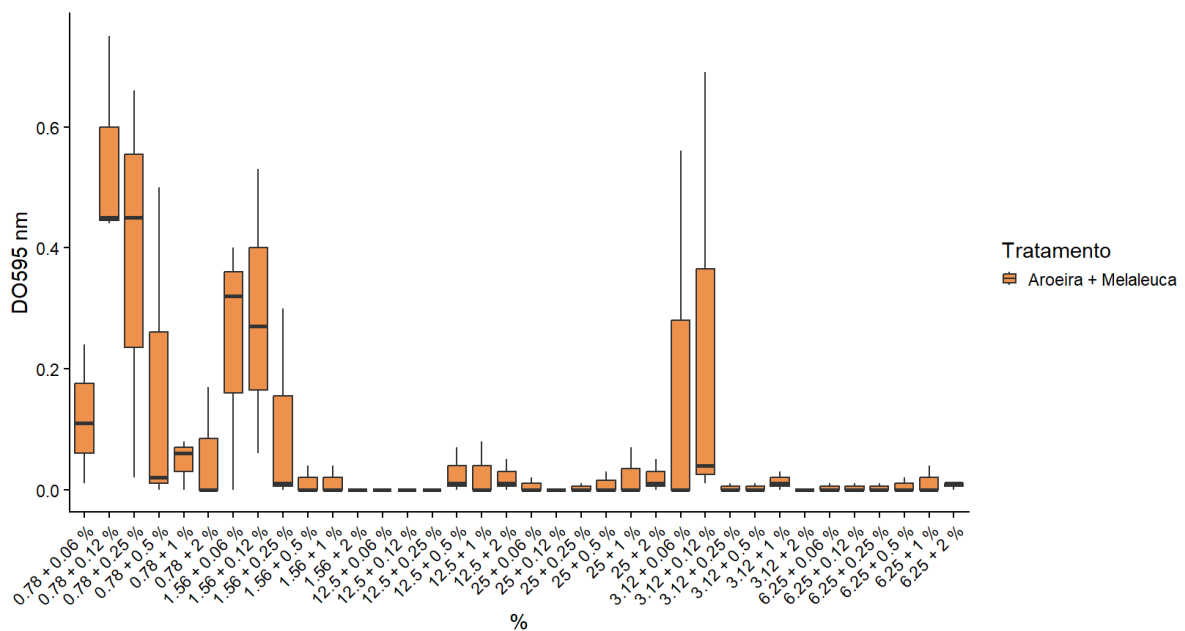


Figura 5b – DO595 em relação ao T2 em *S. aureus*

Na Figura 6, que relaciona a classificação do ICIF com a DO595 nm, nota-se que para ambos os microrganismos os valores de absorbância foram consistentemente menores, indicando redução de crescimento bacteriano. Entretanto, a variabilidade entre as classificações indica que a atividade observada nem sempre se refletiu em redução expressiva da densidade óptica, sugerindo que o efeito das combinações pode depender das condições experimentais avaliadas.

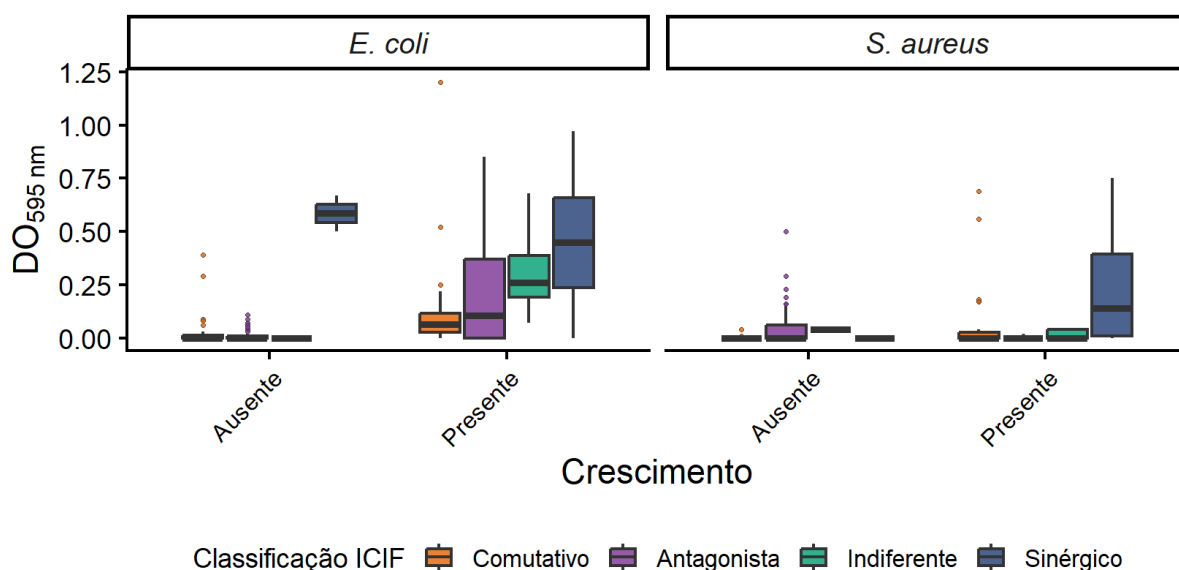


Figura 6 – Distribuição da Densidade Óptica ($DO_{595\text{ nm}}$) por Classificação ICIF por microrganismos avaliado (*S. aureus* e *E. coli*).

6. DISCUSSÃO

Entre os compostos avaliados, os EVs — com destaque para aroeira e carqueja — apresentaram atividade bactericida mais eficaz frente ao *S. aureus*, enquanto os OEs de alecrim e melaleuca demonstraram melhor desempenho antimicrobiano contra *E. coli*. Nas análises de cinética de morte, verificou-se que a maioria dos EVs e OEs atuaram de forma bactericida após 5 horas de exposição, embora em concentrações mais baixas alguns compostos tenham exibido comportamento predominantemente bacteriostático. Quanto ao teste de sinergismo, as combinações avaliadas revelaram efeito antagônico contra *S. aureus*, indicando que a associação entre determinados compostos pode reduzir a atividade antimicrobiana individual.

De acordo com o descrito na literatura, os principais componentes comumente presentes nestes EVs são: antraquinonas, fenólicos, flavonoides e taninos, na babosa; flavonoides e saponinas, na Aroeira; fenóis, flavonoides, protease, alcaloides e saponinas, no mamão; e flavonoides, terpenos, ácidos fenólicos e ácidos clorogênicos, na carqueja (Alhodieb et al., 2025; Costa da Silva et al., 2023; De Almeida et al., 2021; Özdemir et al., 2025).

Em concordância com o presente estudo, alguns trabalhos descrevem que os taninos, compostos fenólicos, flavonoides e saponinas apresentam maior eficácia na

ação bactericida contra microrganismos Gram-positivos – devido à diferenças estruturais em sua parede celular; a ausência da membrana externa nas Gram-positivas facilita a interação e penetração desses compostos, que têm como principal alvo, a membrana citoplasmática (Farhadi et al., 2018; Górnjak; Bartoszewski; Króliczewski, 2019; Momohjimoh et al., 2025; Yan et al., 2024). Apesar destas características, Özdemir et al. (2025) avaliaram a atividade bactericida do extrato de babosa contra *Pseudomonas aeruginosa* e obtiveram resultado coerente com o descrito neste trabalho, que também obteve resposta antimicrobiana do mesmo contra *E. coli*.

Os EVs de aroeira – rico em flavonoides e saponinas – e carqueja – rico em flavonoides e terpenos – mostraram ação antimicrobiana mais competente frente ao *S. aureus*. O mecanismo de ação dos flavonoides envolve danos à membrana citoplasmática e o consequente extravasamento de conteúdo intracelular, o que prejudica funções vitais como a respiração celular bacteriana (Yan et al., 2024; Zhou et al., 2023). Já as saponinas, tem efeito semelhante às cefalosporinas de primeira geração, atuando como moléculas ligantes que desestabilizam a bicamada fosfolipídica, causando lise celular (Dong et al., 2020). Os terpenos são compostos inibidores de bomba de efluxo significativamente eficazes contra Gram-positivas e Gram-negativas. Apesar disso, há indícios de que as bactérias Gram-negativas têm menor probabilidade de serem inibidas por terpenos (Dias et al., 2022).

Em relação aos OEs analisados, de acordo com a literatura, os principais constituintes comumente presentes são os terpenos e terpenoides; dentre eles destacam-se: cineol, α -pineno, cânfora, limonoides, β -cariofileno, terpinen-4-ol, α -terpineol e ácidos resinólicos; além de alguns ácidos graxos, como oleicos (Abada et al., 2025; Kabotso et al., 2024; Skwirzyńska et al., 2025).

Embora esses compostos sejam tradicionalmente associados a uma melhor efetividade contra Gram-positivas, neste estudo o OE de alecrim apresentou ação bactericida apenas contra *E. coli* – o que contradiz dados obtidos por outros pesquisadores que, ao avaliarem o potencial antimicrobiano de óleo de alecrim contra diversos microrganismos concluíram que este possui eficácia superior contra bactérias Gram-positivas, ainda que também tenha mostrado efeito contra *E. coli* e *K. pneumoniae* (Abada et al., 2025).

Esse resultado pode decorrer do quimiotipo utilizado, da proporção dos compostos majoritários ou de características da cepa testada. Óleos ricos em 1,8-cineol – como é o caso do OE de alecrim – tendem a apresentar atividade bactericida contra *S. aureus* em concentrações mais elevadas (Farhanghi et al., 2022). A parede celular mais fina da *E. coli* a torna mais vulnerável ao estresse oxidativo induzido por este composto (Lim et al., 2025; Merghni et al., 2023).

Complementarmente, a análise da cinética de morte revelou comportamentos distintos entre os produtos analisados e sobre as cepas testadas; possivelmente, decorrentes de seus diferentes perfis farmacodinâmicos (Butler et al., 2025). Esta técnica não é frequente em estudos com EVs e OEs, apesar de oferecer informações dinâmicas sobre a interação entre microrganismos e agentes antimicrobianos, mostrando que esta ação depende da concentração e/ou do tempo de exposição (Anugraheni; Rini, 2023).

Neste caso, os OEs de alecrim e melaleuca exibiram comportamento dose-dependente, ou seja, a velocidade de inativação bacteriana aumentou proporcionalmente à concentração do agente (Redelmeier; Zipursky, 2023). Por outro lado, os EVs demonstraram atividade tempo-dependente, sugerindo que o sucesso bactericida destes está condicionado à períodos prolongados de exposição para que ocorra a desestruturação irreversível do microrganismo (Alikhani; Nazari; Hatamkhani, 2025). Apesar dos diferentes comportamentos, com exceção do OE de alecrim, todos os compostos mostraram ação bactericida; entretanto, somente alguns deles demonstraram efeito bacteriostático (Ishak et al., 2024).

Em relação ao teste de sinergismo, foi identificada ação antagônica dos tratamentos 1 e 2 contra *S. aureus*. Este efeito do T1, pode estar relacionado à inativação da papaína, possivelmente causada pelos flavonoides presentes no extrato de carqueja. Fato semelhante ao descrito por Woo et al. (2024), que constataram efeito inibitório de flavonoides contra a PLpro (uma protease semelhante à papaína).

Já no T2, é possível que as moléculas hidrofóbicas amplamente encontradas no OE de melaleuca tenham sofrido solubilização micelar pelas saponinas – que exibem propriedades surfactantes, com capacidade de encapsulamento. Em experimentos *in vitro*, após ser encapsulado, o OE de melaleuca perdeu atividade

biocida contra *E. coli* e *S. aureus* (Cen et al., 2025; Ferreira Lins et al., 2016; Shiri et al., 2025).

Apesar de alguns estudos destacarem as propriedades antimicrobianas individuais de compostos naturais sugerindo potencial de sinergia, há escassez na literatura sobre teste de sinergismo utilizando-os (Costa da Silva et al., 2023; El-Demerdash et al., 2024). As combinações testadas fizeram deste estudo, o pioneiro a abordar o assunto. No entanto, recomendam-se novos estudos para avaliar outras combinações e verificar fatores que possam influenciar os efeitos bactericida e bacteriostático dos compostos naturais. Ademais, a elucidação dos mecanismos de ação e citotoxicidade dos diferentes derivados e suas combinações são importantes para garantir eficácia e segurança do uso de Evs e OEs.

7. CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou a eficácia antimicrobiana dos EVs de babosa, aroeira, carqueja e mamão, além do OE de melaleuca, frente a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* — esta, também susceptível ao OE de alecrim. Aliada à confirmação da atividade biológica, a análise da cinética de morte revelou perfis farmacodinâmicos distintos: enquanto os EVs apresentaram comportamento tempo-dependente, os OEs evidenciaram uma ação dose-dependente. De forma inédita, este trabalho avaliou o sinergismo entre extrato de carqueja com o de mamão, bem como de extrato de aroeira com óleo de melaleuca; contudo, ambas resultaram em efeito antagônico contra *S. aureus*.

Tais achados reforçam que a associação de fitocomplexos deve ser abordada com cautela, uma vez que a interação entre seus constituintes pode comprometer a eficácia antimicrobiana. Ainda, faz-se necessária a investigação dos mecanismos de ação envolvidos nos compostos e, considerando a fitocomplexidade dos EVs e OEs, o fracionamento bioguiado surge como uma etapa complementar e fundamental para estudos futuros. Ademais, visando a futura aplicação terapêutica dos compostos, é imperativo realizar ensaios de citotoxicidade *in vitro* frente a linhagens de células específicas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADA, Emad *et al.* Antimicrobial with time-kill kinetics, antioxidant, and anticancer properties of *Rosmarinus officinalis* L. oil extract based on its bioactive components. **BioResources**, v. 20, n. 2, p. 2728–2744, 18 fev. 2025.

ABPA. Relatório Anual 2025 - Abpa. p. 1–127, 2025.

AKRAM, M. Z.; ASGHAR, M. U.; JALAL, H. Essential oils as alternatives to chemical feed additives for maximizing livestock production. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 72, n. 1, p. 2595–2610, 2021.

AL HAKEEM, Walid Ghazi *et al.* *Campylobacter jejuni* in Poultry: Pathogenesis and Control Strategies. **Microorganisms**, v. 10, n. 11, p. 1–18, 2022.

ALHODIEB, Fahad Saad *et al.* Exploring the bioactive compounds of *Carica papaya* leaves: phytol's role in combatting antibiotic-resistant bacteria. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 15, n. July, p. 1–15, 2025.

ALIKHANI, Mohammad Sina; NAZARI, Mohsen; HATAMKHANI, Shima. Enhancing antibiotic therapy through comprehensive pharmacokinetic/pharmacodynamic principles. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 15, n. February, p. 1–13, 2025.

ALTINKAYNAK, Cevahir *et al.* Anti-microbial, anti-oxidant and wound healing capabilities of Aloe vera-incorporated hybrid nanoflowers. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 135, n. 4, p. 321–330, 2023.

ANUGRAHENI, Anugraheni; RINI, Chylen Setiyo. Effect of Papaya flower ethanolic extract (*Carica papaya*) on the time kill of tetracyclin against *Escherichia coli*. **Pharmaciana**, v. 13, n. 2, p. 246, 2023.

ARBAB, Safia *et al.* Evaluation of in vitro antibacterial effect of essential oil and some herbal plant extract used against mastitis pathogens. **Veterinary Medicine and Science**, v. 8, n. 6, p. 2655–2661, 2022.

ARSÈNE, Mbarga M. J. *et al.* The use of probiotics in animal feeding for safe production and as potential alternatives to antibiotics. **Veterinary World**, v. 14, n. 2, p. 319–328, 2021.

BLONDEAU, J. M. *et al.* In vitro killing of *Escherichia coli*, *Staphylococcus pseudintermedius* and *Pseudomonas aeruginosa* by enrofloxacin in combination with its active metabolite ciprofloxacin using clinically relevant drug concentrations in the dog and cat. **Veterinary Microbiology**, v. 155, n. 2–4, p. 284–290, 2012.

BRASIL. Agronegócio brasileiro fecha 2025 com recorde em exportações de US\$ 169 bilhões e superávit de US\$ 149,07 bilhões. **Ministério da Agricultura e Pecuária**, p. 5–8, 2026.

BUTLER, Mark S. *et al.* Natural product-derived compounds in clinical trials and drug approvals. **Natural Product Reports**, 2025.

CEN, Congnan *et al.* Nano-Emulsification Potentiates *Tea Tree* Oil Bioactivity: High-Stability Formulation for Dual Antimicrobial and Antioxidant Food Preservation. **Foods**, v. 14, n. 19, p. 3405, 2025.

CLSI. Padrões de desempenho para testes de suscetibilidade antimicrobiana. 35^a ed. Suplemento M100 do CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2025

COSTA DA SILVA, Maria Milene *et al.* Antibiotic-Potentiating Activity of the *Schinus terebinthifolius* Raddi Essential Oil against MDR Bacterial Strains. **Plants**, v. 12, n. 8, 2023.

CUNHA, Guilherme; PAULO, Malafaia; NOGUEIRA BISCOLA, Henrique. Anuário CiCarne da cadeia produtiva da carne bovina-2023. 2023.

DE ALMEIDA, Natiely Silveira *et al.* *Baccharis trimera* aqueous extract modulates inflammation and nociception in mice. **Clinical Phytoscience**, v. 7, n. 1, 2021.

DIAS, Kaio Jefté Santos De Oliveira *et al.* Terpenes as bacterial efflux pump inhibitors: A systematic review. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, n. October, p. 1–12, 2022.

DILIPKUMAR, Pal; PADUM, Lal. Herbal Drugs and Medicinal Plants in Controlling and Treatment of Diseases Caused by Dengue Virus (DEN-1 & 2): Ethnopharmacology, Chemistry, and Clinical and Preclinical Studies. In: PAL, Dilipkumar (Org.). **Anti-Viral Metabolites from Medicinal Plants**. Reference Series in Phytochemistry. Cham: Springer International Publishing, 2023.

DONG, Shixia *et al.* Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 149, n. March, 2020.

DORICK, Jennifer M. *et al.* Effect of aquaponic water and substratum material on biofilm formation by *Aeromonas hydrophila*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 404, n. March, p. 110316, 2023.

EL-DEMERDASH, Azza Salah Eldin *et al.* Essential oils as capsule disruptors: enhancing antibiotic efficacy against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, n. August, 2024.

EL-NASHAR, Heba A. S. *et al.* The genus *Schinus* (Anacardiaceae): a review on phytochemicals and biological aspects. **Natural Product Research**, v. 36, n. 18, p. 4839–4857, 2021.

FADLALLA, Eman Aly Sadeek; GALAL, Sahar Mousa. Hepatoprotective and Renoprotective Effects of Artichoke Leaf Extract and *Rosemary* Extract against Paracetamol Induced Toxicity in Albino Rats. **Journal of Pharmaceutical Research International**, v. 12, n. 1, p. 1–10, 2020.

FAO. **Total Milk Production Worldwide Comparison 2023**. **FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS**, 2023. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#compare>>

FARHADI, Faegheh *et al.* Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship: An update review. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 1, p. 13–40, 2018.

FARHANGHI, Ali *et al.* Antibacterial interactions of pulegone and 1,8-cineole with monolaurin ornisin against *Staphylococcus aureus*. **Food Science and Nutrition**, v. 10, n. 8, p. 2659–2666, 2022.

FEHRMANN-CARTES, Karen *et al.* Aloe vera reduces gut inflammation induced by soybean meal in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Frontiers in Animal Science**, v. 3, n. October, p. 1–10, 2022.

FERRAZ, Celso Afonso *et al.* Ecotoxicity of plant extracts and essential oils: A review. **Environmental Pollution**, v. 292, n. PB, p. 118319, 2022.

FERREIRA, Elisângela da Silva *et al.* Synthesis and Characterization of Natural Polymeric Membranes Composed of Chitosan, *Green Banana Peel Extract* and *Andiroba Oil*. **Polymers**, v. 14, n. 6, 2022.

FERREIRA LINS, Renata *et al.* On the formation, physicochemical properties and antibacterial activity of colloidal systems containing *Tea tree* (*Melaleuca alternifolia*) oil. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 497, p. 271–279, 2016.

FONSECA, Natalia Vilas Boas *et al.* Additive Tannins in Ruminant Nutrition: An Alternative to Achieve Sustainability in Animal Production. **Sustainability (Switzerland)**, v. 15, n. 5, 2023.

FRAZÃO, Deborah Ribeiro *et al.* Evaluation of the biological activities of *Copaiba* (*Copaifera* spp): a comprehensive review based on scientometric analysis. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, n. September, p. 1–14, 2023.

GAZWI, Hanaa S. S.; MAHMOUD, Magda E.; HAMED, Moaz M. Antimicrobial activity of *Rosemary* leaf extracts and efficacy of ethanol extract against testicular damage caused by 50-Hz electromagnetic field in albino rats. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 13, p. 15798–15805, 2020.

GIORDANI, Claudia *et al.* Multiresistant bacteria isolated from domestic and wild animals with skin lesions were susceptible to native plants from Southern Brazil. **Natural Product Research**, v. 36, n. 11, p. 2927–2931, 2021.

GIRMATSION, Mogos *et al.* Rapid detection of antibiotic residues in animal products using surface-enhanced Raman Spectroscopy: A review. **Food Control**, v. 126, n. February, p. 108019, 2021.

GÓRNIAK, Ireneusz; BARTOSZEWSKI, Rafał; KRÓLICZEWSKI, Jarosław. **Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids**. [S.l.: S.n.]. v. 18, 2019.

GUSTAFSSON, Christopher *et al.* **Exploring Challenges in the Integration of Additive Manufacturing**. [S.l.: S.n.]. v. 663 IFIP, 2022.

HAESE, Douglas; SILVA, Bruno Alexander Nunes. Antibióticos como promotores de crescimento em monogástricos. Revista Eletrônica Nutritime 7. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 1, p. 7–19, 2004.

HASSAN, Zahra Mohammed *et al.* The Effects of Tannins in Monogastric Animals with Special Reference to Alternative Feed Ingredients. **Molecules**, v. 25, n. 20, p. 1–17, 2020.

IBRAHIM, Taofik Adam; HASSEN, Abubeker; APOSTOLIDES, Zeno. The Antimethanogenic Potentials of Plant Extracts: Their Yields and Phytochemical Compositions as Affected by Extractive Solvents. **Plants**, v. 11, n. 23, p. 1–19, 2022.

ISHAK, Angela *et al.* Bactericidal versus bacteriostatic antibacterials: clinical significance, differences and synergistic potential in clinical practice. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 80, n. 1, p. 1–17, 2024.

JAHANFAR, Shima *et al.* Entrapment of *Rosemary* extract by liposomes formulated by Mozafari method: physicochemical characterization and optimization. **Heliyon**, v. 7, n. 12, p. e08632, 2021.

JAHANFAR, Shima *et al.* The effect of antioxidant properties of free and encapsulated rosemary extract in liposome on the oxidation process of canola oil. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 10, p. 5521–5529, 2023.

KABOTSO, Daniel E. K. *et al.* In Vitro Evaluation of *Rosemary* Essential Oil: GC-MS Profiling, Antibacterial Synergy, and Biofilm Inhibition. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 12, 2024.

KHOLIYA, Sushma *et al.* Effect of seasons, storage and distillation times on essential oil composition of *Melaleuca leucadendra* (L.). **Indian Journal of Natural Products and Resources**, v. 14, n. 4, p. 611–616, 2023.

KONG, Yew Rong *et al.* Beneficial Role of *Carica papaya* Extracts and Phytochemicals on Oxidative Stress and Related Diseases: A Mini Review. **Biology**, v. 10, n. 4, p. 1–20, 2021.

LAND, M. F. © 1973 Nature Publishing Group. **Nat. Phys. Sci.**, v. 241, p. 20, 1973.

LIM, Junghyun *et al.* Different Inactivation Mechanisms of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in Water by Reactive Oxygen and Nitrogen Species Generated from an Argon Plasma Jet. **Environmental Science and Technology**, v. 59, n. 6, p. 3276–3285, 2025.

LIU, Erwei *et al.* Rapid and simultaneous detection of multiple illegal additives in feed and food by SERS with reusable Cu₂O-Ag/AF-C₃N₄ substrate. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 276, p. 121229, 2022.

MAPA. **Instrução Normativa Nº 14, de 17 de maio de 2012.** , 2012.

MAPA. **Instrução Normativa Nº 45, De 22 De Novembro De 2016.** , 2016.

MAPA. **Instrução Normativa Nº 1, de 13 de janeiro de 2020.** , 2020.

MAPA. **Plano estratégico 2020-2031.** 3. ed. [S.l.]: 2023, 2023.

MARCELLO, Antonio. Revista CFMV - Conselho Federal de Medicina Veterinária. In: Brasília: [S.n.], 2001.

MELARA, Elvia Guadalupe *et al.* Probiotics: Symbiotic Relationship with the Animal Host. **Animals**, v. 12, n. 6, p. 1–26, 2022.

MELLO, Priscila Luiza *et al.* *Staphylococcus* spp. Isolated from bovine subclinical mastitis in different regions of Brazil: Molecular typing and biofilm gene expression analysis by rt-qPCR. **Antibiotics**, v. 9, n. 12, p. 1–17, 2020.

MELO, Karina Motta *et al.* *Andiroba* oil and nanoemulsion (*Carapa guianensis* Aublet) reduce lesion severity caused by the antineoplastic agent doxorubicin in mice. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 138, n. March, 2021.

MENDES, Tatiane C. *et al.* Hepato-and cardioprotective effects of *Baccharis trimera* (Less.) DC. against multiple risk factors for chronic noncommunicable diseases. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, n. 3, p. 1–16, 2021.

MERGHNI, Abderrahmen *et al.* 1,8-Cineol (Eucalyptol) Disrupts Membrane Integrity and Induces Oxidative Stress in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Antioxidants**, v. 12, n. 7, 2023.

MIRANDA, Anna Luisa *et al.* ANUÁRIO 2025 Peixe BR da Piscicultura. p. 1–67, 2025.

MIRZAEI-ALAMOUTI, Hamidreza *et al.* Nutrient digestibility, blood metabolites, and production performance of periparturient ewes fed dietary plant extract and monensin. **Small Ruminant Research**, v. 202, n. June, p. 106453, 2021.

MOMOHJIMOH, Abdullahi *et al.* Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. **Phytotherapy Research**, v. 18, n. 1, p. 241–272, 2025.

MOORE, P. R.; EVENSON, A. Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick. **The Journal of biological chemistry**, v. 165, n. 2, p. 437–441, 1946.

NAGHAVI, Mohsen *et al.* Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. **The Lancet**, v. 404, n. 10459, p. 1199–1226, 2024.

NAZARI MOGHADAM, Marziye *et al.* Prevalence of *Salmonella Typhimurium* and *Salmonella Enteritidis* isolated from poultry meat: virulence and antimicrobial-resistant genes. **BMC Microbiology**, v. 23, n. 1, p. 1–8, 2023.

ÖZDEMİR, Çağdaş *et al.* The Potential of Aloe vera and Opuntia ficus-indica Extracts as Biobased Agents for the Conservation of Cultural Heritage Metals. **Metabolites**, v. 15, n. 6, p. 1–14, 2025.

PANDEY, A. *et al.* Perspectives in the use of tannins in animal production & health: a review. **Journal of Livestock Science**, v. 13, n. 2, p. 112, 2022.

REDELMEIER, Donald A.; ZIPURSKY, Jonathan S. A Dose of Reality About Dose–Response Relationships. **Journal of General Internal Medicine**, v. 38, n. 16, p. 3604–3609, 2023.

RODRIGUES, Heitor Leocádio de Souza *et al.* Effective Control of *Salmonella Enteritidis* in Poultry by Dietary Supplementation with Microencapsulated Essential Oils. **Antibiotics**, v. 14, n. 6, p. 1–20, 2025.

SAID DOS SANTOS, Rafaela *et al.* Emulgels Containing Carbopol 934P and Different Vegetable Oils for Topical Propolis Delivery: Bioadhesion, Drug Release Profile, and Ex Vivo Skin Permeation Studies. **AAPS PharmSciTech**, v. 21, n. 6, p. 1–10, 2020.

SHARMA, Anshu *et al.* *Carica papaya* L. Leaves: Deciphering Its Antioxidant Bioactives, Biological Activities, Innovative Products, and Safety Aspects. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, n. April, p. 20, 2022.

SHIRI, Soudeh *et al.* Formulation and characterization of BBR loaded niosomes using saponin as a nonionic biosurfactant investigating synergistic effects to enhance antibacterial activity. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 1–15, 2025.

SILVA, Julianna Henriques da *et al.* *Copaiba* Oil Resin Exerts an Additive Effect to Babassu Oil on Behavioral Changes in Human Endometriotic Cell Cultures. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 11, 2022.

SINGH, Surya P. *et al.* Therapeutic application of *Carica papaya* leaf extract in the management of human diseases. **DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 28, n. 2, p. 735–744, 2020.

SKWIRZYŃSKA, Michalina Adaszyńska *et al.* Potential of Essential Oils from Different Mint Species Against Multidrug - Resistant *Escherichia coli* Strains Isolated from Clinical Cases in Poultry. p. 1–16, 2025.

TIAN, Xiaoyu *et al.* Will reaching the maximum achievable yield potential meet future global food demand? **Journal of Cleaner Production**, v. 294, p. 126285, 2021.

TIMBADIYA, Abhishek; SINGH, Sury Pratap; ROHILLA, Bhuneshwari. A review on comprehensive nutritional assessment and health importance of Papaya (*Carica papaya* L.). **Annals of Phytomedicine: An International Journal**, v. 12, n. 1, p. 115–123, 2023.

TRAN, Charlie *et al.* Antimicrobial Properties of *Bacillus* Probiotics as Animal Growth Promoters. **Antibiotics**, v. 12, n. 2, 2023.

URUÉN, Cristina *et al.* How *Streptococcus suis* escapes antibiotic treatments. **Veterinary research**, v. 53, n. 1, p. 91, 2022.

USDA. Report Name : Dairy and Products Annual. **United States Department of Agriculture and Foreign Agricultural Service**, p. 26, 2025a.

USDA. Livestock and poultry: world markets and trade. **United States Department of Agriculture and Foreign Agricultural Service**, p. 17, 2025b.

VILLANOVA, J. C. O.; GUEDES, R. A.; SEVERI, J. A. **Desafios farmacêuticos no desenvolvimento de produtos veterinários**. [S.l.: S.n.], 2014.

WOO, Hyun Sim *et al.* Flavonoids Derived from the Roots of *Lespedeza bicolor* Inhibit the Activity of SARS-CoV Papain-like Protease. **Plants**, v. 13, n. 23, p. 2–11, 2024.

XIMENES, Thalita Vieira Nascimento *et al.* *Baccharis trimera* Infusion Reduces Macrophages Activation and High-Fat Diet-Induced Metabolic Disorders in Mice. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 10, p. 1–15, 2022.

YAN, Yu *et al.* Antibacterial Activity and Mechanisms of Plant Flavonoids against Gram-Negative Bacteria Based on the Antibacterial Statistical Model. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 3, 2024.

YASIN, Mursleen *et al.* Extraction of Essential Oil from River *Tea Tree* (*Melaleuca bracteata* F. Muell.): Antioxidant and Antimicrobial Properties. **Sustainability (Switzerland)**, v. 13, n. 9, 2021.

ZHANG, Lianhua *et al.* Potential of Aromatic Plant-Derived Essential Oils for the Control of Foodborne Bacteria and Antibiotic Resistance in Animal Production: A Review. **Antibiotics**, v. 11, n. 11, 2022.

ZHOU, Huan *et al.* Antibacterial activity and mechanism of flavonoids from *Chimonanthus salicifolius* S. Y. Hu. and its transcriptome analysis against *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, n. January, 2023.

ZÚÑIGA-SERRANO, Aracely *et al.* Antimicrobial and Digestive Effects of *Yucca schidigera* Extracts Related to Production and Environment Implications of Ruminant and Non-Ruminant Animals: A Review. **Agriculture (Switzerland)**, v. 12, n. 8, 2022.