

## Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a amostras de *Escherichia coli* isoladas de aves e bovinos

### Antimicrobial activity of spice essential oils against *Escherichia coli* strains isolated from poultry and cattle

Deise Flores Santurio<sup>I\*</sup> Mateus MatiuZZi da Costa<sup>II</sup> Grazieli Maboni<sup>III</sup> Carlos Pasqualin Cavalheiro<sup>I</sup>  
Mariangela Facco de Sá<sup>III</sup> Marcelo Dal Pozzo<sup>III</sup> Sydney Hartz Alves<sup>III</sup> Leadir Lucy Martins Fries<sup>I</sup>

#### RESUMO

A discutida questão da substituição do uso de antibacterianos em rações (promotores de crescimento) requer urgentes alternativas. Face às necessidades de inibidores microbianos nesses alimentos, os óleos essenciais (OES) se constituem em alternativa, sob avaliação. Neste estudo, avaliou-se a atividade antimicrobiana dos OES de *Origanum vulgare* (orégano), *Thymus vulgaris* (tomilho), *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Lippia graveolens* (orégano mexicano), *Zingiber officinale* (gengibre), *Salvia officinalis* (sálvia), *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e *Ocimum basilicum* (manjeriço) frente a amostras de *Escherichia coli* isoladas de fezes de aves (n=43) e de bovinos (n=36). A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) foram determinadas para cada isolado através da técnica de microdiluição em caldo, a partir da máxima concentração de 6400 µg mL<sup>-1</sup> de cada OE testado. Observou-se atividade antimicrobiana para os OES de orégano, orégano mexicano, tomilho, canela. Para todas as amostras testadas, independente de sua origem, os OES mais e menos efetivos quanto à atividade antimicrobiana foram o orégano e a canela, respectivamente. Esses resultados confirmaram o potencial antibacteriano de alguns OES, os quais merecem novas investigações abordando sua adição na alimentação de aves e bovinos.

**Palavras-chave:** *Escherichia coli*, óleos essenciais, atividade antimicrobiana.

#### ABSTRACT

The discussed issue about replacing the use of antibiotics in animal feed (growth promoters) requires emerging

alternatives. To meet the needs of microbial inhibitors in these foods, the essential oils (EOS) constitute potential alternatives under evaluation. In this study it was evaluated the antimicrobial activities of EOS from *Origanum vulgare* (oregano), *Thymus vulgaris* (thyme), *Lippia graveolens* (Mexican oregano), *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon), *Zingiber officinale* (ginger), *Salvia officinalis* (sage), *Rosmarinus officinalis* (rosemary) and *Ocimum basilicum* (basil) against *Escherichia coli* strains isolated from poultry (n=43) and cattle faeces (n=36). The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined for each isolate by using the broth microdilution technique, from the maximum concentration of 6400 µg mL<sup>-1</sup> of each OE tested. Antimicrobial activity was observed on the essential oils of oregano, mexican oregano, thymus and cinnamon. For all strains tested, regardless of their origin, the OES more and less effective as antimicrobial activity were oregano and cinnamon, respectively. These results confirm the antimicrobial potential of some EOS, which deserve further research, addressing the addition of essential oils in poultry and cattle feeding.

**Key words:** *Escherichia coli*, essential oils, antimicrobial activity.

#### INTRODUÇÃO

*Escherichia coli* é a espécie predominante entre as bactérias intestinais anaeróbicas facultativas e não esporuladas, pertencendo à família *Enterobacteriaceae*, sendo um bacilo Gram-negativo fermentador da glicose e lactose com produção de ácido

<sup>I</sup>Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Prédio 42, Camobi, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: deisesanturio@ibest.com.br. \*Autor para correspondência.

<sup>II</sup>Fundação Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, PE, Brasil.

<sup>III</sup>Departamento de microbiologia e parasitologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

e gás, dentre alguns atributos úteis na sua identificação (ITO et al., 2007).

Alimentos de origem animal submetidos a algum processo, como é o caso da carne moída, têm sido identificados como importante veículo de transmissão de *E. coli* do sorotipo O157:H7 e outras STEC (*E. coli* produtora de toxina Shiga), isoladas de toxinfecções alimentares no homem (GRIFFIN & TAUXE, 1991). Os bovinos têm sido considerados um importante reservatório de *E. coli*, produtoras da toxina Shiga (SARIDAKIS et al., 1997).

Entre os patógenos bacterianos causadores de infecção em aves, *Escherichia coli* destaca-se como um dos principais agentes responsáveis por perdas econômicas na indústria avícola. As *E. coli* patogênicas para aves (APEC) representam um conjunto de isolados capazes de determinar doenças extra-intestinais como aerossaculite, pericardite e septicemia (ITO et al., 2007), geralmente denominadas como colibacilose.

A colibacilose pode ser controlada por medidas profiláticas e uso de antibacterianos (McMULLIN, 2004). No entanto, a adição de antibacterianos em doses subclínicas (promotores de crescimento) tem gerado preocupações como a emergência de bactérias resistentes bem como a indesejada presença de seus resíduos em derivados cárneos, leite e ovos (WHO, 2003). Nesse contexto, alternativas substitutivas aos antibacterianos são urgentemente requeridas tais como o uso de óleos essenciais e/ou extratos herbais (BRUGALLI, 2003).

Os Óleos Essenciais (OES), derivados de plantas utilizadas como condimentos, representam complexas misturas de substâncias naturais, tradicionalmente utilizadas para acentuar gosto ou aroma de alguns alimentos. Constituem-se de substâncias, cujos componentes incluem hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, ácidos orgânicos fixos, em diferentes concentrações, em que um composto farmacologicamente ativo é majoritário (SIMÕES & SPITZER, 2000). A maior parte da atividade antimicrobiana de OES parece estar associada aos compostos fenólicos (SIMÕES & SPITZER, 2000). O efeito antimicrobiano está relacionado, principalmente, à alteração da permeabilidade e integridade da membrana celular bacteriana (LAMBERT et al., 2001).

Este estudo teve como objetivos: a) avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* dos óleos essenciais de condimentos *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Lippia graveolens* (orégano mexicano), *Ocimum basilicum* (manjeriço), *Origanum vulgare* (orégano), *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Salvia officinalis* (sálvia), *Thymus vulgaris* (tomilho) e *Zingiber officinale* (gingibre) sobre amostras de *E. coli* isoladas

de aves e bovinos; b) comparar a atividade dos OES sobre isolados com perfis de susceptibilidade e de resistência a antibacterianos diversos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Microorganismos

Foram estudadas 79 amostras de *Escherichia coli*, sendo 43 isoladas de fezes de aves e 36 de fezes de bovinos, provenientes do Laboratório de Pesquisas Micológicas da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Todas as amostras foram isoladas de animais sadios.

### Teste de suscetibilidade aos antimicrobianos

Os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos foram realizados pelo método de difusão em ágar (CLSI M31-A3; 2008) utilizando-se: ampicilina (10µg), sulfametoxazol+trimetoprim (25µg), ceftriaxona (30µg), ciprofloxacina (5µg), gentamicina (10µg), estreptomicina (10µg), ácido nalidíxico (30µg), ceftiofur (30µg), amoxicilina (10µg), amoxicilina+ácido clavulânico (30µg), imipenem (10µg), doxiciclina (30µg), obtidos comercialmente (DME; Araçatuba, São Paulo, Brasil).

### Óleos essenciais

Foram utilizados os óleos essenciais de canela, orégano mexicano, manjeriço, orégano, alecrim, sálvia, tomilho e gengibre, obtidos comercialmente, em frasco âmbar, lacrados, com volumes de 5ml (Essential 7.com; Roewell, New Mexico, USA).

### Determinação das concentrações inibitórias mínimas

Após pesagem de 1g, cada óleo essencial foi diluído com metanol até atingir a concentração de 640mg ml<sup>-1</sup> (solução I). A seguir, foi diluído na proporção de 1:100 em Caldo Muller-Hinton, obtendo-se a concentração de 6400µg ml<sup>-1</sup> (solução II). Com base no documento M31-A3 do CLSI (2008), volumes de 100µl de caldo Muller-Hinton eram distribuídos nos poços de uma placa de microtitulação. Em seguida, 100µl da solução II eram acrescidos ao primeiro poço e, após homogeneização, transferia-se para o segundo e assim sucessivamente, obtendo-se concentrações finais de 3200, 1600, 800, 400, 200, 100µg ml<sup>-1</sup>. As colônias de *E. coli* foram desenvolvidas no ágar Muller-Hinton, suspensas em solução salina 0,85% obtendo-se uma turvação equivalente ao tubo 0,5 da Escala Mac Farland (1x10<sup>8</sup>UFC ml<sup>-1</sup>). Desta suspensão, inoculava-se 10µl (1x10<sup>5</sup>UFC ml<sup>-1</sup>) em cada poço já contendo os óleos essenciais. As microplacas eram incubadas durante 24h/35°C, em condições de aerobiose. A CIM consistiu na menor concentração do

óleo essencial capaz de causar inibição total do crescimento bacteriano. Esses ensaios foram realizados em triplicata.

Determinação das concentrações bactericidas mínimas

Definidas como as menores concentrações dos óleos essenciais capazes de causar a morte do inóculo, foram determinadas a partir dos poços onde, após 24h de incubação não havia crescimento bacteriano visíveis. Destes transferia-se uma alíquota de 10µl para a superfície do ágar Muller-Hinton. Após 24h de incubação a 35°C, registrava-se a menor concentração dos óleos essenciais, nos quais não se evidenciava crescimento bacteriano. Esses ensaios foram também realizados em triplicatas.

Análise estatística

O teste não paramétrico de Mann-Whitney foi empregado para comparar duas amostras independentes, visando a observar se os diferentes grupos em estudo apresentavam perfis de suscetibilidade semelhantes ou não, frente a determinado óleo essencial.

## RESULTADOS

Os isolados incluídos neste estudo evidenciaram variações na suscetibilidade frente aos diferentes óleos essenciais (OES). As médias geométricas para as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIMs) e Concentrações Bactericidas Mínimas (CBMs), frente a *E. coli* isoladas de bovinos foram: *Origanum vulgare* [CIM=831,4µg ml<sup>-1</sup> e CBM=915,4µg ml<sup>-1</sup>],

*Lippia graveolens* [CIM=1131,4µg ml<sup>-1</sup> e CBM=1345,4µg ml<sup>-1</sup>], *Thymus vulgaris* [CIM=2095,1µg ml<sup>-1</sup> e CBM=2262,7µg ml<sup>-1</sup>], *Cinnamomum zeylanicum* [CIM=4354,5µg ml<sup>-1</sup> e CBM=5486,4µg ml<sup>-1</sup>] e frente a *E. coli* isolados de aves foram *Origanum vulgare* [CIM=750,1µg ml<sup>-1</sup> e CBM=895,5µg ml<sup>-1</sup>], *Lippia graveolens* [CIM=1508,7µg ml<sup>-1</sup> e CBM=2173,4µg ml<sup>-1</sup>], *Thymus vulgaris* [CIM=1941,5µg ml<sup>-1</sup> e CBM=2005,1µg ml<sup>-1</sup>] *Cinnamomum zeylanicum* [CIM=3098,5µg ml<sup>-1</sup> e CBM=4075,3µg ml<sup>-1</sup>]. No presente estudo, os OES de gengibre, manjeriço, alecrim e sálvia não evidenciaram atividade antibacteriana frente aos microrganismos avaliados. A média geométrica das CIMs indicou que o OE de orégano foi o mais ativo para os isolados de aves do que de bovinos (P<0,0001). Os OE de orégano mexicano e tomilho foram igualmente ativos para os isolados de aves, enquanto, para os isolados de bovinos, o OE de orégano mexicano foi mais ativo que o OE de tomilho (P<0,0001). O OE de canela foi menos ativo (P<0,0001) que os OES de orégano, orégano mexicano e tomilho para os respectivos isolados (Tabela 1).

Com base na resistência aos antimicrobianos, as amostras isoladas de aves foram distribuídas em 16 subgrupos e as de bovinos em 11 subgrupos (Tabela 2). A seguir, avaliou-se a suscetibilidade de cada subgrupo frente aos OES e não foram detectadas diferenças significativas nas suscetibilidades desses subgrupos.

## DISCUSSÃO

Desde 2006, a União Européia, importante cliente do mercado brasileiro de carne, banuiu o uso de

Tabela 1 - Atividade antimicrobiana (µg ml<sup>-1</sup>) dos óleos essenciais de *Origanum vulgare*, *Lippia graveolens*, *Thymus vulgaris* e *Cinnamomum zeylanicum* frente a *E. coli* isoladas de aves e bovinos.

	OES	Faixa	-----CIM-----			-----CBM-----			MG
			CIM <sub>50</sub>	CIM <sub>90</sub>	MG	CBM <sub>50</sub>	CBM <sub>90</sub>		
<i>E. coli</i> de aves	<i>Ov</i>	400-1600	800	1600	750,1 <sup>C</sup>	400-1600	800	1600	895,5 <sup>C</sup>
	<i>Lg</i>	800-3200	1600	3200	1508,7 <sup>B</sup>	1600-3200	1600	3200	2173,4 <sup>B</sup>
	<i>Tv</i>	1600-3200	1600	3200	1941,5 <sup>B</sup>	1600-3200	1600	3200	2005,1 <sup>B</sup>
	<i>Cz</i>	1600-6400	3200	3200	3098,5 <sup>A</sup>	3200-6400	3200	6400	4075,3 <sup>A</sup>
<i>E. coli</i> de bovinos	<i>Ov</i>	400-1600	800	1600	831,4 <sup>D</sup>	400-1600	800	1600	915,4 <sup>D</sup>
	<i>Lg</i>	800-1600	1600	3200	1131,4 <sup>C</sup>	800-1600	1600	3200	1345,4 <sup>C</sup>
	<i>Tv</i>	1600-3200	1600	3200	2095,1 <sup>B</sup>	1600-3200	1600	3200	2262,7 <sup>B</sup>
	<i>Cz</i>	3200-6400	3200	6400	4354,5 <sup>A</sup>	3200-6400	6400	3200	5486,4 <sup>A</sup>

CIM =Concentração Inibitória Mínima; CBM = Concentração Bactericida Mínima; CIM<sub>50</sub> = Concentração Inibitória Mínima capaz de inibir 50% dos isolados; CIM<sub>90</sub> = Concentração Inibitória Mínima capaz de inibir 90% dos isolados; CBM<sub>50</sub> = Concentração Bactericida Mínima para 50% dos isolados; CBM<sub>90</sub> = Concentração Bactericida Mínima para 90% dos isolados; MG = Média Geométrica, em que letras iguais na mesma coluna indicam atividade antimicrobiana similar; OES = Óleos Essenciais, *Ov* = *Origanum vulgare*; *Lg* = *Lippia graveolens*; *Tv* = *Thymus vulgaris*; *Cz* = *Cinnamomum zeylanicum*. Nas comparações entre as CIMs e CBMs, utilizou-se o teste de Mann - Whitney (P<0,05)

Tabela 2 - Relações entre o perfil de resistência de *E. coli* a antimicrobianos e a susceptibilidade a óleos essenciais.

	Subgrupo (n)	Perfil de resistência	-----Variações das CIMs ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )-----			
			Ov	Lg	Tv	Cz
<i>E. coli</i> de aves	1 (16)	não resistente	400-800	800-3200	1600-3200	3200
	2 (3)	DOX	400-800	1600-3200	1600-3200	3200
	3 (4)	AMO	400-1600	1600-3200	1600	1600-6400
	4 (1)	EST	400	1600	1600	3200
	5 (3)	DOX-EST	400-1600	1600-3200	1600-3200	1600-3200
	6 (5)	EST-AMO	400-1600	1600-3200	1600-3200	3200
	7 (1)	SUT-EST	1600	1600	1600	3200
	8 (1)	AMP-AMO	800	3200	1600	3200
	9 (1)	DOX-AMOX	1600	3200	3200	3200
	10 (2)	AMP-EST-AMO	800	800-3200	1600	3200
	11 (1)	AMC-EST- AMO	800	1600	1600	3200
	12 (1)	DOX -EST-AMO	400	1600	3200	3200
	13 (1)	DOX-AMC-AMO	400	1600	3200	3200
	14 (1)	AMC-EST-GEN	1600	1600	1600	3200
	15 (1)	CTF-NAL-EST-AMO	1600	3200	3200	3200
	16 (1)	SUT-DOX-EST-GEN	800	1600	1600	3200
<i>E. coli</i> de bovinos	1 (9)	não resistente	400-1600	800-1600	1600-6400	3200-6400
	2 (14)	AMO	400-1600	800-1600	1600-6400	3200-6400
	3 (1)	DOX	800	1600	3200	3200
	4 (4)	EST	800	800-1600	1600-3200	3200-6400
	5 (1)	EST-AMO	800	800	1600	3200
	6 (1)	NAL-EST	1600	800	3200	3200
	7 (1)	AMC-AMO	800	1600	1600	6400
	8 (2)	NAL-AMO	400-800	1600	1600	3200-6400
	9 (3)	AMC-EST-AMO	1600	800	1600	3200
	10 (5)	SUT-DOX-AMC-EST-AMO	800	800	1600	3200
	11 (5)	AMP-DOX-AMC-EST-AMO	1600	1600	3200	3200

AMP = ampicilina ; SUT = sulfametoxazol+trimetoprim; GEN = gentamicina; EST= estreptomicina; NAL = ácido nalidixico ; AMO = amoxicilina; AMC = amoxicilina + ácido clavulânico; CTF = ceftiofur; DOX = doxiciclina; CIMs = Concentrações Inibitórias Mínimas; (n) número de isolados; Ov = *Oreganum vulgare*; Lg = *Lippia graveolens*; Tv = *Thymus vulgaris*.

promotores de crescimento (HUGHES et al., 2008). No Brasil, há crescente pressão pelas mesmas restrições, por isso alternativas substitutivas aos antimicrobianos tradicionalmente utilizados estão sob investigação (BRUGALLI, 2003).

As propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais de plantas aromáticas são reconhecidas desde a Antiguidade (SIMÕES & SPITZER, 2000). Neste estudo, avaliou-se a atividade antibacteriana de OES, obtidos de plantas condimentares sobre *E. coli* patogênica para aves e bovinos. Os OES de orégano, orégano mexicano, tomilho e canela evidenciaram atividade antimicrobiana frente a *E. coli* com variado perfil de susceptibilidade a antibacterianos.

A destacada atividade antimicrobiana do *O. vulgare* frente a *E. coli* de várias origens confirmou

estudos anteriores. SMITH-PALMER et al. (1998) e HÖFERL et al. (2009) relataram importante atividade antimicrobiana do OE de orégano frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas, incluindo *E. coli*. BURT et al. (2003) observaram que os óleos essenciais de orégano e tomilho possuem significativa atividade bacteriostática e bactericida frente *E. coli* O157:H7, isoladas de fezes de bovinos. Os compostos fenólicos carvacrol e timol, enquanto frações majoritárias, garantem tais atividades. Essa atividade também tem sido relatada frente a fungos leveduriformes sensíveis e resistentes aos antimicóticos (POZZATTI et al., 2010).

A *Lippia graveolens* (orégano mexicano ou lípia) é uma planta condimentar originária do México. A composição de seu OE exibe significativos teores de carvacrol (0,47-24,84%) e timol (0,22-60,6%) (SÁNCHEZ

et al., 2010). Vários estudos já evidenciaram atividade antimicrobiana (CIM=2000 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) sobre *E. coli* ATCC 11229 (SÁNCHEZ et al., 2010); todavia, no presente estudo, detectou-se melhor potencial antimicrobiano MG das CIMs=1508,7 $\mu\text{g ml}^{-1}$  (*E. coli* de aves) e MG das CIMs=1131,4 $\mu\text{g ml}^{-1}$  (*E. coli* de bovinos) que o relatado por SANCHEZ et al. (2010).

Com base na composição média quantitativa das frações majoritárias carvacrol e timol nos OES de orégano (carvacrol 66%; timol 1,0%) (HÖFERL et al., 2009) lípia (carvacrol 38%; timol 3,0%) (SANCHEZ et al., 2010) e tomilho (carvacrol <4,1% e timol 43,4%) (HÖFERL et al., 2009). Os resultados encontrados neste trabalho evidenciaram que a menor concentração de carvacrol teve impacto decrescente na atividade antimicrobiana, o que torna-se claro nos resultados obtidos com o OE de tomilho.

No presente estudo, o OE de canela mostrou-se menos ativo que o de orégano, lípia e tomilho. SANTURIO et al. (2007), avaliando amostras de *Salmonella* enterica isoladas de aves e POZZATTI et al. (2010) estudando amostras de *Candida* spp., também constataram este perfil de atividade para o OE de canela. JAYAWARDENA & SMITH (2010) avaliaram a composição do OES de *Cinnamomum zeylanicum* extraído de folhas no qual predominava o eugenol (98%); já, quando extraído da casca, era rico em cinamaldeído (>80%). HÖFERL et al. (2009) relataram fraca atividade do OE de folhas da canela (eugenol = 74%) frente a *E. coli*. Em contrapartida, BASKARAN et al. (2009) ressaltaram a fração cinamaldeído como mais ativa do que carvacrol, eugenol e timol. Assim, a atividade do OE de canela é dependente da parte do vegetal do qual é extraído, o que pode justificar as discrepâncias acima apontadas.

Frente aos OES de alecrim, sálvia, manjerição e gengibre, os resultados aqui apresentados não evidenciaram atividade antimicrobiana. Todavia, VIUDA-MARTOS et al. (2008) e DELAMARE et al. (2007) relataram atividade antimicrobiana dos OES de sálvia e alecrim frente a *Staphylococcus* spp, *Enterobacter gergoviae*, *E. amnigenus*, *Lactobacillus sakei*, e *L. curvatus*. A disparidade entre os resultados encontrados neste trabalho e os relatados por esses autores pode ser atribuída à composição dos OES ou às técnicas empregadas. Neste estudo, foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo, com base no documento M31-A3 do CLSI (2008) para determinação das CIMs e CBMs. A inexistência de uma técnica internacionalmente padronizada para avaliação de OES e extratos vegetais permite que diferentes protocolos sejam utilizados, o que compromete as comparações de resultados VIUDA-MARTOS et al. (2008) e SMITH-PALMER et al. (1998).

No presente estudo, a atividade dos OES sobre os subgrupos de *E. coli* com diferentes perfis de resistência foi independente do maior ou menor padrão de resistência aos antibacterianos, o que está de acordo com outros autores. SI et al. (2008) relataram a atividade do OE de orégano sobre *E. coli* ESBL (extended-spectrum  $\beta$ -lactamase) resistentes a múltiplos antibacterianos; MAHBOUBI & BIDGOLI (2009) relataram que o OE de *Zataria multiflora* (condimento iraniano semelhante ao tomilho) composto por timol (38%), carvacrol (15,3%) e p-cimene (10,2%) apresentou atividade antimicrobiana similar frente a isolados de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente (MRSA) e sensíveis (MSSA). Frente a *Candida*, sensíveis e resistentes ao fluconazol. POZZATTI et al. (2010) relataram atividade antifúngica dos OES independentemente do perfil de resistência dos microrganismos.

O grande número de isolados e a variada procedência garantiram a heterogeneidade das amostras de *E. coli* para melhor avaliar a atividade antimicrobiana destes OES. A constatação de que a atividade dos OES de orégano, orégano mexicano, tomilho e canela é independente da susceptibilidade aos antibacterianos testados reforça a condição desses OES como candidatos a substituir antibacterianos, usados na alimentação de aves e bovinos.

## CONCLUSÃO

Este estudo permitiu concluir que: a) os óleos essenciais de orégano, orégano mexicano, tomilho e canela apresentaram atividade bactericida frente a *E. coli* isolados de aves e bovinos; b) o óleo essencial de orégano apresentou atividade antimicrobiana (CIMs e CBMs) superiores aos óleos essenciais de orégano mexicano, tomilho e canela; c) a susceptibilidade aos óleos essenciais foi semelhante entre subgrupos de isolados, independente da resistência aos antimicrobianos testados.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

BASKARAN, A.S. et al. Antibacterial effect of plant-derived antimicrobials on major bacterial mastitis pathogens in vitro. *Journal of Dairy Science*, v.92, n.4, p.1423-1429, 2009. Disponível em: <<http://download.journals.elsevierhealth.com/pdfs/journals/0022-0302/PIIS0022030209704539.pdf>>. Acesso em: 28 jan. 2011. doi: 10.3168/jds.2008-1384.

- BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas, SP. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2003. V.1, p.167-182.
- BURT, S.A., REINDERS, R.D. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. **Letters in Applied Microbiology** v.36, p.162-167, 2003. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1472-65X.2003.01285.x/pdf>>. Acesso em: 28 jan. 2011. doi: 10.1046/j.1472-65X.2003.01285.x.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**; approved Standard – 3.ed. Wayne,PA, 2008. (CLSI document M31-A3 Clinical and Laboratory Standards Institute).
- DELAMARE, A.P.L. et al. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. **Food Chemistry**, v.100, p.603-608, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.078>>. Acesso em: 28 jan. 2011. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.09.078.
- GRIFFIN, P.; TAUXE, R.V. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *Escherichia coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. **Epidemiologic Review** v.13, p.60-98, 1991. Disponível em: <<http://epirev.oxfordjournals.org/content/13/1/60.long>>. Acesso em: 28 jan. 2011.
- HÖFERL, M. et al. Correlation of antimicrobial activities of various essential oils and their main aromatic volatile constituents. **Journal of Essential Oil Research**, v.21, p.459-464, 2009. Disponível em <<http://media.web.britannica.com/ebsco/pdf/020/44602020.pdf>>. Acesso em: 28 jan. 2011.
- HUGHES, L. et al. Risk factors for the use of prescription antibiotics on UK broiler farms. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.61, p.947-952, 2008. Disponível em: <<http://jac.oxfordjournals.org/content/61/4/947.long>>. Acesso em: 27 jan. 2011. doi:10.1093/jac/dkn017.
- ITO, N.M.K. et al. **Diagnóstico diferencial das enfermidades bacterianas, fúngicas e parasitárias que acometem os frangos de corte**. Cascavel, PR: Coluna do Saber, 2007. 160p.
- JAYAWARDENA; B.; SMITH, R.M. Superheated water extraction of essential oils from *Cinnamomum zeylanicum* (L.). **Phytochemical Analysis**, v.21, p.470-472, 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pca.1221/abstract>>. Acesso em: 28 jan. 2011. doi: 10.1002/pca.1221.
- LAMBERT, R.J.W. et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, p.453-462, 2001. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x/abstract>>. Acesso em: 28 jan. 2011. doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x.
- McMULLIN, P. Produção avícola após redução do uso de antibióticos. Riscos, potencial de contaminação cruzada e detecção de resíduos. North Yorkshire, U.K., 2004. In: CONFERÊNCIA APINCO, 2., 2004, Campinas SP. **Anais...** Campinas: FACTA, 2004. V.2. 291p. p.219.
- MAHBOUBI, M.; BIDGOLI, F.G. Antistaphylococcal activity of *Zataria multiflora* essential oil and its synergy with vancomycin. **Phytomedicine**, v.17, p.548-550, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2009.11.004>>. Acesso em: 28 jan. 2011. doi: 10.1016/j.phymed.2009.11.004.
- POZZATTI, P. et al. Comparison of the susceptibilities of clinical isolates of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to essential oils. **Mycoses**, v.53, p.12-15, 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0507.2008.01643.x/abstract>>. Acesso em: 20 jan. 2011. doi: 10.1111/j.1439-0507.2008.01643.x.
- SÁNCHEZ, A.A. et al. Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H. B. K.) with different composition when microencapsulated in  $\beta$ -cyclodextrin. **Letters in Applied Microbiology**, v.50, p.585-590, 2010. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1472-765X.2010.02837.x/abstract>>. Acesso em: 20 jan. 2011. doi:10.1111/j.1472-765X.2010.02837.x
- SANTURIO, J. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* enterica de origem avícola. **Ciência Rural**, v.37, n.3, p.803-808, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v37n3/a31v37n3.pdf>>. Acesso em: 28 de jan. 2011.
- SARIDAKIS, H.O. et al. Virulence properties of *Escherichia coli* strains belonging to enteropathogenic (EPEC) serogroups isolated from calves with diarrhea. **Veterinary Microbiology**, v.54, p.145-153, 1997. Disponível em <[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1135\(96\)01278-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1135(96)01278-3)>. Acesso em: 28 jan. 2011. doi:10.1016/S0378-1135(96)01278-3.
- SI, H. et al. Antibacterial effect of oregano essential oil alone and in combination with antibiotics against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli*. **FEMS Immunol Med Microbiol**, v.53, p.190-194, 2008. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1574-695X.2008.00414.x/abstract>>. Acesso em: 25 jan. 2011. doi: 10.1111/j.1574-695X.2008.00414.x.
- SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000. Cap.18.
- SMITH-PALMER, A. et al. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v.26, p.118-122, 1998. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1472-765X.1998.00303.x/abstract>>. Acesso em: 28 jan. 2011. doi: 10.1046/j.1472-765X.1998.00303.x.
- VIUDA-MARTOS, M. et al. Antibacterial activity of different essential oils obtained from spices widely used in Mediterranean diet. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.526-531, 2008. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1750-3841.2008.00966.x/abstract>>. Acesso em: 28 jan. 2011. doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00966.x.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Joint FAO/OIE/WHO EXPERT WORKSHOP ON Non-HUMAN ANTIMICROBIAL USAGE AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE: SCIENTIFIC ASSESSMENT," Presented in Geneva, Switzerland, Dec. 2003. Disponível em: <[www.who.int/foodsafety/micro/meetings/nov2003/en/](http://www.who.int/foodsafety/micro/meetings/nov2003/en/)>. Online. Acesso em: 24 nov. 2010.