

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS AQUOSO E ETANÓLICO DE *Psidium guajava*

VERDERIO, Leonardo Álisson Pompermayer¹
WEBER, Laís Dayane²

RESUMO

Nos últimos anos, estudos com extratos vegetais vêm sendo desenvolvidos para tentar descobrir novas propriedades antimicrobianas provenientes de produtos naturais e menos agressivos a saúde, e possivelmente utilizados no combate de micro-organismos como a *Salmonella* isoladas de carnes de aves e que tem causado prejuízos para a saúde humana. Sendo assim, o presente trabalho propõe por meio do método de micro diluição em caldo a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) dos extratos vegetais aquoso e etanólico de *Psidium guajava* (goiabeira vermelha) testados frente a quatro sorovares de *Salmonella*: *S. enteretidis*, *S. heidelberg* e *S. typhimurium* isoladas de carne de frango e *S. heidelberg* ATCC 8326, afim de determinar a menor concentração do extrato necessária para inibir ou causar a morte desses micro-organismos. O extrato etanólico apresentou-se como bacteriostático e bactericida frente aos sorovares de *Salmonella*, sendo a CIM e CBM em mg/mL respectivamente: 25/50 para *S. enteretidis*, 25/100 para *S. heidelberg*, 25/25 para *S. typhimurium* e 25/100 para *S. heidelberg* ATCC 8326 e o extrato aquoso não apresentou atividade antimicrobiana para nenhum dos sorovares testados. Contudo, o extrato etanólico de *Psidium guajava* pode ser utilizado futuramente como antimicrobiano alternativo para frangos de corte.

PALAVRAS-CHAVE: Antimicrobianas, sorovares, concentração inibitória mínima (CIM), concentração bactericida mínima (CBM).

EXTRACTS ANTIMICROBIAL ACTIVITY EVALUATION OF AQUEOUS VEGETABLES AND *Psidium guajava* ETHANOLIC

ABSTRACT

In recent years, studies of plant extracts have been developed to attempt to discover new antimicrobial properties derived from natural and less harmful to health products, and possibly used to combat micro-organisms as single *Salmonella* in poultry, and has caused damage to human health. Thus, this work proposes, through the method of micro broth dilution, determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of aqueous and ethanolic plant extracts *Psidium guajava* (red guava) tested against four serotypes of *Salmonella*, *S. enteretidis*, *S. heidelberg* and *S. typhimurium* isolates from chicken, and *S. heidelberg* ATCC 8326 in order to determine the lowest concentration of extract required to inhibit or cause the death of these microorganisms. The ethanol extract was presented as bacteriostatic and bactericidal front of the serotypes of *Salmonella*, the MIC and MBC are in mg / mL respectively: 25/50 for *S. enteretidis*, 25/100 for *S. heidelberg*, 25/25 for *S. typhimurium* and 25/100 for *S. heidelberg* ATCC 8326 and the aqueous extract showed no antimicrobial activity for any of the tested serotypes. However, the ethanol extract of *Psidium guajava* can be used in the future as an alternative antimicrobial for broilers.

KEYWORDS: Antimicrobial, serovars, minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC).

1. INTRODUÇÃO

Na década de 80, no Brasil e no mundo, os surtos envolvendo *Salmonella* spp. aumentaram de forma significativa, pois alimentos de origem avícola como carne de frango e ovos apresentaram

¹ Biólogo Licenciado pela Faculdade Assis Gurgacz – FAG, especialista em Educação Ambiental pela Faculdade de Educação São Luís, e-mail: leonardo_verderio@hotmail.com

² Bióloga, Mestre em Manejo e Conservação de Recursos Naturais pela UNIOESTE, Docente do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Assis Gurgacz – FAG, e-mail: laisweber@gmail.com

contaminação pelo micro-organismo (SILVA, 2007). Nos últimos anos, a produção de carne de frango no Brasil tem apresentado altos índices de crescimento. O país se tornou o terceiro maior produtor de carnes de frango no mundo e líder em exportação, sendo os estados do Rio Grande do Sul e Paraná os principais produtores (MAPA 2015).

Neste sentido, antimicrobianos são utilizados na alimentação de frangos de corte e têm por função melhorar o rendimento do animal, atuando na sua conversão alimentar visando redução de custos (LEITE *et al*, 2012). O uso de antibióticos na dieta de aves é comumente praticado devido à sua atuação no crescimento desses animais, porém seu uso é preocupante para o consumo humano em decorrência da presença de resíduos e seleção de cepas resistentes em produtos finais, podendo assim, produzir reações alérgicas, serem tóxicos ou induzir ao surgimento de resistência bacteriana (SANTOS *et al*, 2004).

No ano de 1998, a União Europeia (UE) proibiu o uso de alguns antibióticos que atuavam como promotores de crescimento animal. Já em 2007, quase todos os medicamentos utilizados para este fim foram banidos. No entanto, a partir de 2008 todos os antibióticos com essa função não estão mais sendo utilizados na alimentação animal em países da UE (BRUNAMO e GATTÁS, 2009), com isso, o ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) no Brasil foram proibidos de utilizar vários desses remédios para continuar a exportação de carne de frango para esses países (MAPA, 2004).

O gênero *Salmonella* está dividido em duas espécies: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*, estando frequentemente relacionada a doenças envolvendo pessoas e animais. A *Salmonella* pode ser encontrada em quase todos os animais, dentre eles aves, animais domésticos, animais de granja, e também seres humanos. Neste sentido, a contaminação de animais de origem avícola ocorre muitas vezes pela ingestão de rações contaminadas pelo micro-organismo (MURRAY *et al*, 2004).

A quantidade e ocorrência de *Salmonella* spp. encontradas em carne de frango oscilam em relação às condições de manuseio durante a criação e cuidados higiênicos durante o abate dos animais e subsequente manuseamento das carcaças. Mesmo com todos os avanços tecnológicos, é possível que haja a contaminação bacteriana em carnes de frango, principalmente por patógenos do gênero *Salmonella*, que podem ser encontrados no trato gastrintestinal das aves causando possíveis contaminações de carcaças e de outros produtos de origem avícola caso não haja devidos cuidados higiênicos durante o processo de abate (CARVALHO e CORTEZ, 2005).

A carne de frango, como sendo produto de origem animal apresenta um papel importante na epidemiologia de Salmoneloses em seres humanos, podendo transformar-se em um problema potencial no diagnóstico de infecções alimentares em pessoas que a consomem. Sendo assim,

medidas devem ser tomadas nas indústrias avícolas, como por exemplo, maior fiscalização por parte da vigilância sanitária para tentar reduzir a contaminação de carne de aves por *Salmonella*, evitando também riscos à saúde dos consumidores (CARVALHO e CORTEZ, 2005).

O uso indiscriminado e descontrolado de antimicrobianos tem contribuído para o aparecimento de bactérias multirresistentes (NOVAIS *et al.*, 2003). Com isso, a procura por métodos seguros e que sejam saudáveis para serem introduzidos na produção de aves, bem como outras tecnologias que visam garantir a sustentabilidade, conduziram ao desenvolvimento de estudos para tentar encontrar meios alternativos para substituir produtos químicos baseando-se em princípios ativos naturais para atuar no controle de doenças e pragas. Porém, por serem considerados “alternativos” não estão livres de apresentarem problemas na relação com outros indivíduos, considerados inimigos naturais (WEBER, 2013).

Dentre os meios alternativos utilizados no controle microbiológico estão os extratos vegetais, que vêm se destacando por apresentarem grande eficiência como antimicrobianos, podendo ser utilizados na avicultura. Os princípios ativos provindos de extratos vegetais podem ser encontrados em diferentes partes da planta como folhas, casca, frutos, dentre outras, e sua atividade biológica apresenta-se como forma alternativa de controle de várias doenças, zoonoses e também atuam contra a resistência microbiana não agredindo o meio ambiente, pois são meios naturais (WEBER, 2013).

Estudos recentes envolvendo a ação antimicrobiana de extratos vegetais apresentam a grande potencialidade de aplicação de plantas de diferentes lugares do mundo contra micro-organismos resistentes, dentre eles a *Salmonella*. No Brasil, a diversidade de plantas é extremamente alta e muitas delas são utilizadas pela medicina em diversas áreas da saúde apresentando metabolismos secundários e inibitórios contra micro-organismos, sendo assim, estudos para esse fim são muito importantes, principalmente como forma natural no tratamento de doenças com um custo muito menor que os demais medicamentos (DUARTE *et al.*, 2004).

A avaliação da atividade antimicrobiana provinda de extratos vegetais pode ser utilizada em diferentes métodos, dentre eles: difusão em ágar por poço, disco difusão e macro e micro diluição. Os métodos de difusão em ágar ou em caldo são utilizados para medir a quantidade “*in vitro*” da atividade antimicrobiana contra determinada espécie de micro-organismo (BONA *et al.*, 2014 *apud* CLSI, 2008).

Para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) de extratos vegetais, o método de micro diluição vem sendo utilizado com mais frequência (OSTROSKY *et al.*, 2008). Neste sentido, A CIM é a menor concentração de uma determinada droga capaz de inibir o crescimento de um organismo, e a CBM é a concentração de

uma determinada droga capaz de matá-lo ao invés de apenas inibi-lo (LEVINSON e JAWETZ, 2005).

Pertencente à família das Myrtaceas, a *Psidium guajava* (goiabeira) é uma planta nativa da América do Sul, e tem sido muito utilizada como planta medicinal no mundo inteiro, sendo encontradas duas espécies mais comuns, a goiabeira branca e a vermelha, em que todas as partes da planta são utilizadas para tratamentos de doenças por apresentarem atividade anti-inflamatória, antiespasmódico, antidiarreico, antioxidante dentre outros (BARBALHO *et al.*, 2012).

A Família Myrtaceae é composta por aproximadamente 100 gêneros e cerca de 3000 espécies, sendo a maior da ordem Myrtales, ocorrendo principalmente nas Américas e Austrália, apesar de serem encontradas dispersas por todo o mundo. Podem se apresentar na natureza como plantas lenhosas ou em forma de arbustos (JOLY, 2002).

Com base no exposto, este trabalho tem por objetivo a avaliação de extratos vegetais aquoso e etanólico de *Psidium guajava* em diferentes sorovares de *Salmonella* que afetam a avicultura por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) desses extratos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

A coleta das folhas de *Psidium guajava* (goiabeira vermelha) foi realizada nas primeiras horas da manhã do dia 02 de julho de 2015, em um sítio na cidade de Vera Cruz do Oeste, PR. Em seguida, o material coletado foi seco a temperatura ambiente. Posteriormente, as folhas foram trituradas em moinho de facas até granulometria inferior a 0,42 mm, obtendo-se assim o pó. Este material foi armazenado em recipientes de vidro ao abrigo da luz até ser utilizado na preparação dos extratos.

Para a obtenção dos extratos foi seguido à metodologia de Weber e colaboradores (2014) com algumas adaptações. Para a obtenção do extrato etanólico foi utilizado etanol absoluto (P.A) como solvente, adicionou-se 40g de pó em 100 mL de solvente e foi deixado sob agitação por 24 horas no SHAKER, após esse período de tempo, a solução foi filtrada em papel filtro estéril (Whatman N° 1) e submetida à rotoevaporação com auxílio do rotoevaporador (marca FISATOM), a fim de se retirar todo o solvente. Na sequência, esse soluto foi diluído com água destilada estéril seguindo a

proporção de seu peso, atingindo a concentração de 40%, e posteriormente foi realizada a esterilização a vácuo com membrana de porosidade de 0,25 mm, em seguida, a solução final obtida foi armazenada em frascos de vidro estéreis e foram conservados em freezer com temperatura de 0°C, sendo então denominado “extrato vegetal etanólico a 40%”.

Para o preparo do extrato vegetal aquoso, foram necessárias 20g do pó da planta e 100mL de água destilada estéril e submetido à agitação contínua no SHAKER por 24h. Em seguida, a solução foi filtrada utilizando papel filtro estéril até a obtenção de um filtrado homogêneo. Em seguida, foi realizada a filtração a vácuo com membrana filtrante de porosidade de 0,25 mm, e a solução final foi armazenada em frascos de vidro estéreis e conservados em freezer a uma temperatura de 0°C até sua utilização. Este portanto, é denominado “extrato vegetal aquoso a 20%”.

2.2 PREPARO DO INÓCULO

Foram selecionados quatro sorovares de *Salmonella* spp. de origem avícola de maior incidência na região Oeste do Paraná, *Salmonella enteretidis*, *Salmonella heidelberg*, *Salmonella typhimurium* isoladas, e *Salmonella heidelberg* ATCC 8326. As amostras bacterianas foram recuperadas em caldo BHI e incubadas a 37°C por 24 horas. Após esse período de tempo, foi transferido para um segundo crescimento em Muller Hinton (MH) caldo, também por 24 horas a uma temperatura de 37°C. Depois, foram retiradas alíquotas do segundo crescimento e diluídos em solução salina estéril a uma concentração de 0,9% para obtenção de um inóculo na concentração de 1×10^5 UFC/mL. A turvação da solução foi ajustada na escala de McFarland.

2.3 TESTE DE MICRO DILUIÇÃO EM CALDO

Para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi utilizada como base a técnica apresentada por Weber e colaboradores (2014), com algumas adaptações. Primeiramente, foram adicionados às placas de micro diluição 100µL de Muller Hinton caldo em concentração dobrada em todos os poços. Posteriormente, foi adicionado 100µL de extrato a uma concentração de 40%, totalizando 400mg/mL¹, e foram realizadas diluições sucessivas entre os poços, em que a cada diluição se diminuía pela metade o valor da concentração. Logo após, alíquotas 10µL da diluição das bactérias foram adicionadas nos poços. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C. Utilizou-se como controle positivo do experimento o antimicrobiano Cloranfenicol 30mg/mL, e

para o controle negativo água destilada estéril. Para determinação das CIMs, levou-se em consideração a presença ou ausência de turvação dos poços, em que a presença de turvação indica o crescimento bacteriano e a ausência o não crescimento. Para confirmação da CIM, utilizou-se uma solução de Cloreto trifénil tetrazólio (CTT) que foi adicionado em todos os poços, incubando-se por 3 horas a uma temperatura de 37°C. Desta maneira, investigou-se a menor concentração do extrato eficiente para causar completa inibição do crescimento bacteriano. Os testes foram realizados em triplicata.

Para a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM), teve-se por base o método apresentado por Weber e colaboradores (2014). Nos poços da CIM que não apresentaram turvação, ou seja, que não houve crescimento bacteriano visível foi retirado uma alíquota de 10µL, antes da aplicação da solução de CTT, inoculando-se em uma placa de Petri contendo Muller Hinton ágar, e incubando-se por 24 horas a uma temperatura de 37°C. Logo após, definiu-se a CBM, menor concentração bactericida capaz de causar a morte das bactérias. Os testes foram realizados em triplicata.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se por meio da CIM e da CBM que o extrato aquoso de *Psidium guajava* não apresentou atividade antimicrobiana frente aos sorovares de *Salmonella, heidelberg* ATCC 8326, *enteretidis, heidelberg* e *typhimurium* isoladas nas diferentes concentrações testadas (tabela 1).

O extrato etanólico de *Psidium guajava* apresentou-se como bacteriostático e bactericida frente aos sorovares testados. A atividade bacteriostática foi encontrada na concentração de 25mg/mL para as cepas de *S. heidelberg* ATCC 8326, *S. enteretidis*, *S. heidelberg* e *S. typhimurium* isoladas. Verificou-se atividade bactericida nas concentrações de 100mg/mL para as cepas de *S. heidelberg* ATCC 8326, 50mg/mL para *S. enteretidis*, 100mg/mL para *S. heidelberg* e 25mg/mL para *S. typhimurium* isoladas. (tabela 1).

Tabela 1 – Concentração inibitória mínima (CIM), Concentração bactericida mínima (CBM), e controles positivo e negativo dos extratos aquoso e etanólico de *Psidium guajava* (goiabeira vermelha), frente aos diferentes sorovares de *Salmonella* spp.

Sorovar	CIM/CBM (mg/mL)		CP	CN
	Extrato Aquoso	Extrato Etanólico		
<i>S. heidelberg</i> ATCC 8326	0/0	25/100	-	+
<i>S. enteritidis</i>	0/0	25/50	-	+
<i>S. heidelberg</i>	0/0	25/100	-	+
<i>S. typhimurium</i>	0/0	25/25	-	+

*CP: Controle Positivo; CN: Controle Negativo; (-): Não crescimento; (+): Crescimento

Sendo assim, o sorovar que apresentou menor resistência frente ao extrato etanólico de *Psidium guajava* foi a *S. typhimurium* isolada, e os que apresentaram maior resistência foram as cepas de *S. heidelberg* ATCC 8326 e *S. heidelberg* isolada.

Bona e colaboradores (2014) demonstraram resultados semelhantes ao avaliar a atividade antimicrobiana de extrato etanólico de *Psidium guajava* no teste de poço, sendo que as CIMs para bactérias Gram-Negativas variaram de 0,39 a 25mg/mL e para a CBM entre 0,39 e 50mg/mL, e analisaram a presença de halos de inibição em relação à *S. typhimurium* para o extrato etanólico de goiabeira no teste de disco. A atividade bacteriostática e bactericida de *P. guajava* pode ser atribuída aos taninos e flavonoides encontrados no metabolismo secundário da planta (IHA *et al*, 2008).

Testes realizados com extratos vegetais hidro alcoólicos de folhas e caule secos de *Psidium guajava* (goiaba vermelha), apontaram atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram-Negativas por meio do método de difusão em disco para *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Proteus* spp, e *Pseudomonas aeruginosa*, em que os extratos das folhas apresentaram atividade para *Salmonella* spp. (CARVALHO *et al*, 2002). O mesmo foi observado no presente trabalho quando testado o extrato etanólico de folhas secas de *Psidium guajava* frente aos diferentes sorovares de *Salmonella* spp. utilizando-se o método de micro diluição em caldo.

Amancio e colaboradores (2015) realizaram experimentos com extratos vegetais de plantas do gênero *Psidium* e relataram atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas por meio do método de difusão em ágar, como solvente extrator para as folhas secas de goiabeira vermelha foi utilizado álcool etílico a uma concentração de 70%. No presente estudo também foi encontrada atividade antimicrobiana utilizando-se planta do gênero *Psidium* contra bactérias Gram-Negativas.

Os extratos vegetais tem se destacado como eficientes antimicrobianos, e seu estudo é de extrema importância como meio alternativo para possível substituição de antibióticos utilizados como aditivos em rações de frangos de corte visando redução de custos e diminuindo as chances de cepas resistentes (WEBER, 2013). Como opção destaca-se o extrato etanólico de *P. guajava* (goiabeira vermelha), que pode ser considerado uma alternativa natural para possível substituição dos antibióticos na avicultura, pois se apresentou como bacteriostático e bactericida frente aos sorovares de *Salmonella* spp. (BONA *et al* 2010).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que o extrato aquoso de *Psidium guajava* não apresentou atividade antimicrobiana frente aos sorovares testados, e o extrato etanólico apresentou atividade bacteriostática e bactericida frente aos sorovares de *Salmonella* spp., podendo ser utilizado futuramente como antimicrobiano natural para frangos de corte após os testes de toxicidade in vivo.

REFERÊNCIAS

AMANCIO, A. M.; REIS, L. O.; PEREIRA, J. B. B.; LUCIA, M. MALAQUIAS, L. C. C., CHAVASCO, J. K. Estudo da Ação Antimicrobiana de Extratos de Plantas do Gênero *Psidium*. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, n. 1, p. 644-652, 15 set. 2015.

BARBALHO, S. M.; FARINAZZI-MACHADO, F. M. V.; GOULART, R. A.; BRUNNATI, A. C. S.; OTTOBONI, A. M. M. B.; NICOLAU, C. C. T. *Psidium guajava* (Guava): a plant of multipurpose medicinal applications. **Medicinal Aromatic Plants**. Los Angeles, n. 4, p.1-6, 2012.

BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Pharmacology/Scientific Article**. São Paulo, n. 3, p. 218-225, 06 fev. 2014 *apud* CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**. Norma aprovada 3^a ed. Wayne, PA, CLSI document M31-A3, 2008.

BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. S.; BORGES, A. M. C.; W. L. D.; FRUET, T. K.; ALVES, L. R. A.; MOURA, A. C. Avaliação da atividade antimicrobiana de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre sorovares de *Salmonella* spp. de origem avícola. **Ciênc. Biol. Saúde**, n. 12, p.45-48, 2010.

BONA, E. A. M.; PINTO, F. G. S.; FRUET, T. K.; JORGE, T. C. M.; MOURA, A. C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória

mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Pharmacology/Scientific Article.** São Paulo, n. 3, p. 218-225, 06 fev. 2014

BRUNANO, G.; GATTÁS, G. Implicações sobre o uso de antimicrobianos em rações de monogástricos. **Revista Eletrônica Nutritime.** [S.I.]; n. 3, p. 953-959, Maio/Junho, 2009.

CARVALHO, A.A.T.; SAMPAIO, M.C.C.; SAMPAIO, F.C.; MELO, A.F. M; SENA, K. X. F. R.; CHIAPPETA, A. A.; HIGINO, J. S. Atividade antimicrobiana *in vitro* de Extratos Hidro alcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre Bactérias Gram-Negativas. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, n. 4, p. 255-258, set. 2002.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural.** Santa Maria, n. 6, p. 1465-1468, nov./dez. 2005.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; PEREIRA, B.; MAGALHÃES, P. M.; DELARMELINA, C. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** [S. I.]; n. 01, p.06-08, 2004.

IHA, S. M., MIGLIATO, K. F.; VELLOSA, J. C. R.; SACRAMENTO, L. V. S.; PIETRO, R. C. L. R.; ISAAC, V. L. B.; BRUNETTI, I. L.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Estudo fitoquímico de goiabeira (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** n. 3, p.387-393, 2008.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal.** 13.ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002, v.4, p.499,504.

LEITE, P. R. S. C.; MENDES, F. R.; PEREIRA, M. L. R.; LIMA, H. J. D.; LACERDA, M. J. R. Aditivos fitogênicos em rações de frangos. **Centro científico Conhecer.** Goiânia, n. 15, p.9-26, 30 nov. 2012.

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. **Microbiologia Médica e Imunologia.** 7.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, cap.11, p.89.

MAPA. Ministério da agricultura. **Departamento de Fomento e Fiscalização da Produção Animal/Secretaria de Apoio Rural e Cooperativismo/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Site: www.anvisa.org DFPA/SARC/MAPA, 2004. Acesso em 25. Out. 2015.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/aves>. Acesso em 25. Out. 2015.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica.** 4.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S. A., 2004, cap. 29, p.256,257.

NOVAIS, T. S.; COSTA, J. F. O.; DAVID, J. P. L.; DAVID, J. M.; QUEIROZ, L. P.; FRANÇA, F.; GIULIETTI, A. M.; SOARES, M. B. P.; SANTOS, R. R. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** Bahia, n. 02, p.05-08, 2003.

OSTROSKY, E.A.; MIZUMOTO, M.K.; LIMA, M.E.L.; KANEKO, T.M.; NISHIKAWA, S.O.; FREITAS, B.R. Métodos para a avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da

concentração mínima inibitória (CIM) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** São Paulo, n. 2, p.301-307, abr./jun. 2008.

SANTOS, E. C.; TEIXEIRA, A. S.; FREITAS, R. T. F.; RODRIGUES, P. B.; DIAS, E. S.; MURGAS, L. D. S. **Uso de aditivos promotores de crescimento sobre o desempenho, características de carcaça e bactérias totais do intestino de frangos de corte.** 2004. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, O. R. **Modelo teórico de estimativa de risco de *Salmonella Enteritidis* em sistema integrado de produção de frango de corte e tipagem molecular de *Salmonella spp.* oriundas de aves e rações submetidas a diferentes tratamentos com ácidos orgânicos.** 2007. Tese (Doutorado em Ciências (microbiologia)) – Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo.

WEBER, L. D. **Composição química, atividade antimicrobiana e antioxidante de óleo essencial e diferentes extratos vegetais de *Prunus myrtifolia* (L.) Urb.** 2013. Dissertação (Mestrado em Conservação e Manejo de Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel.

WEBER, L. D.; PINTO, F. G. S.; SCUR, M. C.; SOUZA, J. G. L.; COSTA, W. F.; LEITE, C. W. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil and various plant extracts from *Prunus myrtifolia* (L.) Urb. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, p. 846-853, 27 Fev. 2014.