**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AGRESTE DE DE PERNAMBUCO - UFAPE**
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO - PRPPG**
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE ANIMAIS DE PRODUÇÃO – PPGSRAP**

**MESTRADO ACADÊMICO**

**MATHEUS REBOUÇAS ALCHAAR**

# PROSPECÇÃO DE COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS DE AROEIRA (*Schinus terebinthifolius* Raddi)

**GARANHUNS**

**2024**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AGRESTE DE DE PERNAMBUCO - UFAPE**
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO - PRPPG**
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE ANIMAIS DE PRODUÇÃO - PPGSRAP**

**MESTRADO ACADÊMICO**

**MATHEUS REBOUÇAS ALCHAAR**

# PROSPECÇÃO DE COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS DE AROEIRA (*Schinus terebinthifolius* Raddi)

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção - PPGSRAP, da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco - UFAPE, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção.

**Orientador:** Prof. Dr. Pedro Gregório Vieira Aquino

**Coorientadora:** Profa. Dra. Keila Aparecida Moreira

**Linha de Pesquisa:** Sanidade de Animais de Produção

**GARANHUNS**

**2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas (SIB-UFAPE)

Alchaar, Matheus Rebouças

A351p Prospecção de compostos antimicrobianos de aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*) / Matheus Rebouças Alchaar. – Garanhuns, 2024.

77 f. : il. color.

Orientador(a): Pedro Gregório Vieira Aquino.

Coorientador(a): Keila Aparecida Moreira.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, Sanidade e Reprodução de Animais de Produção, Garanhuns, BR-PE, 2024.

Inclui referências e anexo.

1. Plantas medicinais 2. Aroeira 3. Química vegetal 4. Plantas - Composição 5. Salmonella I. Aquino, Pedro Gregório Vieira (orient.) II. Moreira, Keila Aparecida (coorient.) III. Universidade Federal do Agreste de Pernambuco Sanidade e Reprodução de Animais de Produção IV. Título

CDD 581.634

Elaborado pelo(a) bibliotecário(a) Elayne Vitalina dos Santos Oliveira (CRB-4/PE-002357/O)

**MATHEUS REBOUÇAS ALCHAAR**

# PROSPECÇÃO DE COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS DE AROEIRA (*Schinus terebinthifolius* Raddi*)*

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção - PPGSRAP, da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco - UFAPE, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção.

**Orientador:** Prof. Dr. Pedro Gregório Vieira Aquino

**Coorientadora:** Profa. Dra. Keila Aparecida Moreira

**Linha de Pesquisa:** Sanidade de Animais de Produção

Aprovado em: 30 de julho de 2024

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Pedro Gregório Vieira Aquino – Orientador
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco - UFAPE

---

Prof. Dr. Vladimir da Mota Silveira Filho – UPE/ PPGSDS
Avaliador externo

---

Dr. Edson Flávio Teixeira da Silva – Vets Diagnóstico Veterinário
Avaliador externo

Este trabalho é dedicado com amor aos meus pais Modad e Sinara, e ao meu irmão Stéfanno, pela paciência, carinho e estímulo constante.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Santíssima Trindade: ao Deus Pai, Filho e Espírito Santo pela minha vida, amor, sustentação, por sempre agraciar meus caminhos e pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional vivida aos longo desses últimos dois anos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro ao desenvolvimento científico.

Ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção (PPGSRAP) pela oportunidade e suporte técnico à pesquisa.

Ao Prof. Dr. Pedro Gregório Vieira Aquino pela orientação, oportunidade, confiança, pelas cobranças, incentivo, por todo auxílio prestado durante todo esse tempo.

À Profa. Drª. Keila Aparecida Moreira pela coorientação, por ter me inserido em sua equipe, ajuda e por sua grandiosa contribuição.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Fontes Baptista Filho, pelo acolhimento e por todo o suporte no início desta trajetória.

Aos Prof. Dr. Marcelo Mendonça e Profa. Drª. Elizabete Rodrigues da Silva, pela parceira nos experimentos, fornecimento das cepas bacterianas e por terem aberto as portas dos seus laboratórios.

Ao corpo docente do PPGSRAP, pelos ensinamentos e experiências compartilhadas, em especial a Profa. Drª. Taciana Rabelo Ramalho Ramos por ter acolhido e supervisionado no estágio docência 2.

Aos membros do Colegiado de Coordenação Didática (CCD), professores Marcello, Luiz, Elizabete, Gilcia, Emanuela, Márcia e à colega Iraci, pelas trocas, colaboração e desenvolvimento nas melhorias das normas internas do PPGSRAP. A colaboração e o apoio de todos foram fundamentais para o crescimento e sucesso do programa, e sinto-me honrado por ter feito parte desse grupo.

À toda minha família, em especial aos meus pais, Modad Miguel Alchaar e Sinara Almeida Rebouças, pelo amor, dedicação e apoio em todos os momentos. Ao meu irmão Stéfanno Rebouças pelos conselhos, confissões e amizade. À minha amada avó Nágila Ossen Ali Alchaar por todo incentivo e amor.

A Roberlúcio Carvalho Falcão Fernandes da Costa e Alysson Paulo dos Santos Godoi, pelo incentivo desde o começo desta trajetória e toda a ajuda proporcionada, sendo

imprescindíveis em minha caminhada. Aos monges do Mosteiro de São Bento de Garanhuns, minha segunda família, pela acolhida e suporte prestados nos anos que vivi neste lar. E demais familiares e amigos de longas datas, que carrego no coração e que sempre torceram por mim.

Aos meus colegas, amigos e novas amizades que fiz durante o mestrado, Alysson Paulo Godoi, Flaviana Dantas, Lucas Azevedo, Sayonara Barreto, Assis Albuquerque, Karen Barros, Iraci Oliveira, Udhanysson Felipe e Rafaella Cerqueira, os aprendizados, alegrias, desafios compartilhados e lembranças serão eternas.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Meio Ambiente (LMA), Bruno Henrique, Lucas Santos, Cainã Oliveira, Lucas Vieira, Lívia Ramos e Emerson Wesllen, pelas ajudas oportunas, momentos de descontração e suporte na realização dos experimentos.

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia, Tecnologia Enzimática e Bioprodutos (LMTEB), Tamires Espíndola, Edson Flávio, Erick Galindo, Ana Erundina, Edcleiton Lima, Matheus Oliveira, Andreza Assis, Anna Gisele, Felipe Pereira, Juliana Bernardo, Daniele Sá, Mariane Mendes, Ana Cavalcanti e Mateus Antônio, pelos ensinamentos, auxílios, esclarecimentos e suporte em todas as etapas feitas fora e dentro no laboratório.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Microbiologia, Ana Clara, Júlio Cesar Vieira, Sayonara Barreto, Hiandrey Torres, pelo compartilhamento do espaço e matérias, ajudas e momentos de ensinamentos e descontração.

Aos funcionários/técnicos dos Laboratórios de Ensino e CENLAG, Chica, Renata, Isabela, Natana, Dona Ione, Seu Jair, Leonardo, Suzana, pelo auxílio e disponibilização de materiais.

A todos que, direta e indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

"*A Cruz Sagrada seja a minha Luz. Não seja o dragão o meu guia. Retira-te satanás. Nunca me aconselhes coisas vãs. É mau o que tu me ofereces. Bebe tu mesmo teus venenos."*

(Oração de São Bento)

## RESUMO

Diante do crescente surgimento de microrganismos resistentes aos antimicrobianos usuais e do aumento de infecções de difícil controle em ruminantes, a busca por novas opções terapêuticas se torna crucial. Muitos medicamentos são derivados de compostos extraídos de plantas, o que justifica a investigação de atividades antimicrobianas de diversas espécies vegetais, incluindo aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), da família Anacardiaceae. Estudos científicos têm documentado ação antimicrobiana significativa de seus extratos etanólicos, reforçando seu potencial para o tratamento de doenças infecciosas devido às suas propriedades antibacterianas. Este estudo teve como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano do extrato etanólico e frações das folhas de aroeira (*S. terebinthifolius*) contra bactérias causadoras de enterites em bovinos, especificamente *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Dublin. O processo de caracterização dos constituintes da fração de acetato de etila e suas subfrações foram seguidas de fracionamento cromatográfico através de permeação em sílica gel e Sephadex LH-20, bem como prospecção fitoquímica. Este estudo foi bioguiado e, portanto, o fracionamento foi realizado de acordo com os resultados obtidos nos ensaios biológicos. Os resultados indicaram atividade significativa apenas contra *Salmonella* Dublin, inibindo o crescimento em ≥ 90% das cepas, observando-se que a fração de acetato de etila e suas subfrações: A2 e B2 apresentaram os menores valores de concentração inibitória mínima de 0,046 mg/mL em relação à subfração C1 (0,75 mg/mL). Por outro lado, nenhum dos níveis de concentração testados inibiu o crescimento de *Salmonella* Typhimurium. Os resultados preliminares revelaram a presença de antronas, glicosídeos cardiotônicos, alcaloides, flavonoides, terpenos e cumarina. A descoberta exclusiva de antronas neste estudo sugere uma nova contribuição para a composição química da planta. Compostos como fenóis, flavonoides e terpenos identificados são reconhecidos por suas propriedades antimicrobianas, possivelmente responsáveis pela eficácia observada. Este estudo pioneiro amplia o conhecimento sobre o potencial antimicrobiano da aroeira, indicando sua promissora aplicação na medicina veterinária e abrindo novas perspectivas para o desenvolvimento de novos medicamentos.



**PALAVRAS-CHAVE:** Anacardiaceae; plantas medicinais; fitoquímica; atividade antimicrobiana; *Salmonella*.

## ABSTRACT

Given the increasing emergence of microorganisms resistant to conventional antimicrobials and the rise of hard-to-control infections in ruminants, the search for new therapeutic options becomes crucial. Many medications are derived from compounds extracted from plants, which justifies the investigation of the antimicrobial activities of various plant species, including the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) from the Anacardiaceae family. Scientific studies have documented significant antimicrobial action from its ethanolic extracts, reinforcing its potential for treating infectious diseases due to its antibacterial properties. This study aimed to evaluate the antimicrobial potential of the ethanolic extract and fractions from the leaves of *S. terebinthifolius* against bacteria causing enteritis in cattle, specifically *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Dublin. The characterization process of the constituents of the ethyl acetate fraction and its subfractions was followed by chromatographic fractionation through permeation in silica gel and Sephadex LH-20, as well as phytochemical prospecting. This study was bio-guided, and therefore, the fractionation was carried out according to the results obtained in biological assays. The results indicated significant activity only against *Salmonella* Dublin, inhibiting the growth of ≥ 90% of the strains, with the ethyl acetate fraction and its subfractions A2 and B2 showing the lowest minimum inhibitory concentration values of 0,046 mg/mL compared to subfraction C1 (0,75 mg/mL). On the other hand, none of the concentration levels tested inhibited the growth of *Salmonella* Typhimurium. Preliminary results revealed the presence of anthrones, cardiotonic glycosides, alkaloids, flavonoids, terpenes, and coumarin. The exclusive discovery of anthrones in this study suggests a new contribution to the plant's chemical composition. Compounds such as phenols, flavonoids, and terpenes identified are recognized for their antimicrobial properties, possibly responsible for the observed efficacy. This pioneering study expands the knowledge of the antimicrobial potential of *S. terebinthifolius*, indicating its promising application in veterinary medicine and opening new perspectives for the development of new drugs.



**KEYWORDS:** Anacardiaceae; medicinal plants; phytochemistry; antimicrobian activity; *Salmonella*.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA

**Figura 1** - Estruturas químicas dos flavonoides (miricetina, miricetrina e quercitrina) ..... 19
**Figura 2** - Aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) ..... 21
**Figura 3** - Orgãos reprodutivos e vegetativos da aroeira-vermelha..... 23
**Figura 4** - Distribuição de patógenos associada à idade em bezerros com diarreia ..... 27
**Figura 5** - *Salmonella* Dublin e *Salmonella* Typhimurium em Àgar Salmonella-Shigella (SS) ..... 30

### CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO

**Figura 1** - Fracionamento por cromatografia em coluna de acordo com atividade biológica. 57
**Figura 1** - Cromatograma da subfração A2 realizada por CCD. Fase móvel: acetato de etila:hexano (4:6) visualizado por câmera UV.....59

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA

**Tabela 1 -** Compostos encontrados na espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi..... 24

### CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO

**Tabela 1** - Sistemas cromatográficos empregados para obtenção do perfil fitoquímico da fração e subfrações *Schinus terebinthifolius* Raddi.....55

**Tabela 2 -** Análise de variância das diferentes frações e concentrações de extratos vegetais.56

**Tabela 3 -** Percentual de inibição do crescimento de *Salmonella* Dublin frente à ação de diferentes extratos oriundos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.....57

**Tabela 4** – Análise fitoquímica da fração e suas subfrações bioativas de *Schinus terebinthifolius* Raddi.....57

## LISTA DE ABREVIAÇÕES E SIGLAS

| | |
|---|---|
| ATCC | *American Type Culture Collection* |
| CC | Cromatografia em Coluna |
| CCD | Cromatografia em Camada Delgada |
| CBM | Concentração Bactericida Mínima |
| CFM | Concentração Fungicida Mínima |
| CIM | Concentração Inibitória Mínima |
| CMH | Caldo Mueller-Hinton |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| DNB | Diarreia Neonatal Bovina |
| DO | Densidade Óptica |
| EEB | Extrato Etanólico Bruto |
| R*f* | Fator de retenção |
| SNT | *Salmonella* não tifoide |
| spp. | Espécies |
| *S. terebinthifolius* | *Schinus terebinthifolius* Raddi |
| THAF | Tetrahidroamentoflavona |
| UV | Ultravioleta |

## LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|---|---|
| AcOEt | Acetato de Etila |
| $CHCl_3$ | Clorofórmio |
| EtOH | Etanol |
| Hex | Hexano |
| KOH | Hidróxido de Potássio |
| MeOH | Metanol |
| µg | Micrograma |
| µL | Microlitro |
| µm | Micrômetro |

**SUMÁRIO**

**1 INTRODUÇÃO** ..... 14
**2 OBJETIVOS** ..... 17
**2.1 Geral** ..... 17
**2.2 Específicos:** ..... 17
**3 CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA** ..... 18
3.1 *Schinus terebinthifolius* Raddi ..... 20
**3.1.1 Propriedades antimicrobianas** ..... 25
3.2 DIARREIA DOS BEZERROS ..... 26
3.3 SALMONELOSE ..... 29
**3.3.1 Salmonelose em bovinos** ..... 31
3.4 RESISTÊNCIA BACTERIANA ..... 33
**REFERÊNCIAS** ..... 36
**4 CAPÍTULO II – PRODUÇÃO CIENTÍFICA** ..... 47
4.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ESTUDO FITOQUÍMICO BIOGUIADO DE EXTRATOS DE *Schinus terebinthifolius* ..... 47
**5 CONSIDERAÇÕES FINAIS** ..... 64
**REFERÊNCIAS** ..... 61
**ANEXO A: NORMAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGO CIENTÍFICO** .....65

# 1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com fins medicinais é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (Firmo *et al*., 2012). Ao longo dos tempos, o ser humano utilizou a natureza como sua principal fonte de sobrevivência, e as plantas desempenharam um papel importante nessa conquista, pois passaram a ser fonte de tratamento, para cura e prevenção de doenças (Almeida, 2011). Essa prática marcou o início do desenvolvimento da medicina e permitiu que o conhecimento sobre as propriedades terapêuticas das plantas fosse transmitido e aperfeiçoado ao longo das gerações (Brasil, 2012). A Organização Mundial Saúde da define planta medicinal como sendo todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos (OMS, 2002).

Com o avanço da medicina e a descoberta de substâncias químicas, tornou-se possível criar medicamentos capazes de combater uma ampla variedade de enfermidades. Um marco significativo foi a introdução da penicilina na década de 1940, revolucionando o tratamento de doenças infecciosas (Cardoso, 2019). Nos dias atuais, o tratamento de muitas doenças infecciosas depende do uso de antibióticos alopáticos, que são fundamentais na prática clínica. No entanto, as bactérias sofreram modificações que causaram resistência a certos medicamentos, aumentando sua capacidade de sobreviver em ambientes com antimicrobianos que normalmente inibem e/ou matam outras da mesma espécie (McEwen; Collignon, 2018). Esta ocorrência reduz a eficácia dos antibióticos, tornando as infecções mais difíceis de tratar e representando uma ameaça significativa à saúde pública global (Irwin, 2020).

As infecções causadas por cepas bacterianas resistentes que afetam humanos e animais resultam em maior morbidade, mortalidade e custos de tratamento mais elevados, sendo esse problema agravado pela falta de pesquisas sobre o desenvolvimento de novos antibióticos (Alós, 2015; Costa; Silva Júnior, 2017). Existem bactérias que são resistentes a praticamente todas as famílias de antibióticos disponíveis no mercado tornando alguns tratamentos convencionais ineficazes (Pontes *et al*., 2018). Essa resistência pode ser causada pelo uso incorreto de medicamentos quando pela adaptação ao tratamento proposto, por isso é importante estudar fontes alternativas de medicamentos no combate a doenças (Igrejas *et al.*, 2017).

Diante desses desafios, o uso de plantas medicinais tem ganhado destaque na produção de óleos essenciais e extratos naturais, que contêm compostos bioativos com diversas propriedades terapêuticas documentadas na literatura (Cioch *et al*., 2017; Batista *et al*., 2020).

No entanto, ocorre variação na atividade antimicrobiana entre as diferentes partes da mesma planta, e também de acordo com o tipo de solvente utilizado na preparação dos extratos, e esse aspecto deve ser sempre observado. Estudos indicam que os extratos etanólicos são eficientes antimicrobianos, pois o etanol é capaz de romper as células vegetais, liberando assim compostos intracelulares com propriedades terapêuticas (Cioch *et al.*, 2017). Dessa forma, o desenvolvimento de novos fármacos a partir de extratos de plantas vem se tornando motivo de pesquisa, pois é por meio delas que as principais fontes de medicamentos são criadas (Falzon; Balabanova, 2017).

Em razão disso, as indústrias farmacêuticas buscam por substâncias que sejam capazes de atuar contra a resistência desenvolvida pelos patógenos. Neste contexto, o Brasil se destaca como um ecossistema que apresenta uma grande biodiversidade de espécies, muitas delas com atividades farmacológicas relatadas na medicina popular (Sousa *et al*., 2021). A aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi), também conhecida como árvore de pimenta brasileira, aroeira-vermelha ou pimenta rosa (Cioch *et al*., 2017), pertencente à família Anacardiaceae e encontrada em muitas regiões do Brasil, possui características antimicrobianas (Costa *et al*., 2015; Uliana *et al*., 2016; Santos *et al*., 2019). A árvore pode medir de 5 a 10 metros de altura, possui a copa larga, o tronco pode chegar a entre 30 a 60 centímetros de diâmetro com a casca grossa (USP, 2012).

Esta planta vem sendo investigada em relação aos efeitos terapêuticos das frações dos extratos brutos de folhas, cascas e frutos, pretendendo conhecer os princípios ativos responsáveis pela ação antimicrobiana e anti-inflamatória (Carlini *et al*., 2010; Feriani *et al*., 2020). A eficácia antimicrobiana de diversos extratos alcoólicos de *S. terebenthifolius* foi testada em microrganismos isolados de alveolites humanas e introduzidas em animais (ratos), onde se constatou que entre os extratos etanólicos testados o da raiz da aroeira teve os melhores resultados contra bactérias Gram negativas e positivas (Melo *et al*., 2002). Já o estudo de Salvi Junior (2009) teve a fração em acetato de etila das folhas de *S. terebinthifolius* com melhor atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*.

Dentre alguns estudos, na análise da atividade antimicrobiana dos extratos das folhas e frutos da aroeira, produzidas com etanol inibiram microrganismos como *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* (Gomes *et al*., 2020). Carneiro (2021) observou que o extrato etanólico das folhas de *S. terebinthifolius* apresentou uma forte inibição contra *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* e *Klebsiella pneumoniae* (Carneiro, 2021).

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo, sendo necessário o

adequado manejo desde o nascimento até a vida adulta para garantir a qualidade e saúde criação dos animais (Vieira; Gomes, 2021). Entre as enfermidades que atingem esses animais, as enterites causadas por bactérias representam um desafio significativo para a pecuária e a saúde animal, podendo causar perdas diretas por mortalidade, e indiretas como baixo desempenho, animais-reservatórios de patógenos, aumento da resistência a antimicrobianos na propriedade e gastos de medicamentos (Millemann, 2009).

A resistência crescente aos antimicrobianos convencionais e o impacto das enterites em bovinos causadas por *Salmonella* spp. representam desafios significativos para a pecuária e a saúde animal. Embora existam estudos que apontam o potencial antimicrobiano de diversas plantas medicinais, ainda há uma lacuna no conhecimento sobre a eficácia da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) especificamente contra *Salmonella* spp. em ruminantes. Assim, com base nas explanações apresentadas, a realização deste trabalho é justificada por investigar a atividade antibacteriana do extrato etanólico das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi contra *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Dublin, patógenos de grande relevância na sanidade de bovinos. A investigação desta planta, amplamente reconhecida por suas propriedades medicinais, pode oferecer alternativas promissoras para o tratamento de infecções bacterianas em bovinos, atendendo à demanda crescente por métodos de produção animal que sejam menos dependentes de antibióticos convencionais.

# 2 OBJETIVOS

## 2.1 Geral

- Avaliar o potencial antimicrobiano do extrato etanólico e das frações obtidas das folhas de aroeira (*Schinus terebenthifolius* Raddi), frente às bactérias causadoras de enterites em bovinos.

## 2.2 Específicos:

- Avaliar as frações mais eficazes no controle da atividade antimicrobiana frente às bactérias S*almonella* Typhimurium e *Salmonella* Dublin que acomentem bovinos;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima do extrato da aroeira frente as bactérias S*almonella* Typhimurium e *Salmonella* Dublin;
- Avaliar a atividade antimicrobiana das frações Aquosa (Aq), Acetato de Etila (AcOEt), e Hexano (Hex), bem como de subfrações obtidas destas frações;
- Caracterizar as frações e subfrações mais ativas e identificar classes de metabólitos secundários com potencial atividade antimicrobiana através de métodos colorimétricos.

# 3 CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA

A salmonelose é uma doença bacteriana que afeta diversas espécies de animais domésticos, incluindo bovinos, equinos e suínos, frequentemente resultando em quadros de septicemia e distúrbios entéricos (Cummings *et al*., 2009; Costa *et al*., 2012; Holschbach; Peek, 2018). Nos bovinos, a doença clínica é predominantemente causada por *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar Typhimurium e *S. enterica* subsp. *enterica* sorovar Dublin (Carrique *et al*., 2010; Uzal *et al*., 2016; Pecoraro *et al*., 2017). A principal via de transmissão da salmonelose é a fecal-oral, com a doença se desenvolvendo devido à eficiência da bactéria em invadir a mucosa intestinal, suprimir a resposta imune e colonizar tecidos linfoides do hospedeiro. Animais infectados ou portadores assintomáticos podem disseminar a doença no rebanho, tornando-se uma importante fonte de contaminação de alimentos e disseminação da infecção entre os rebanhos e seres humanos (Peek *et al*., 2004; Radostits *et al*., 2007; Paixão; Pinto; Santos, 2016).

Essa enfermidade, especialmente em bovinos, é caracterizada por diarreia aquosa ou mucóide, com presença de fibrina e sangue, além de sintomas como perda de peso, doença respiratória, sepse, abortos e até óbito (Nielsen, 2003; Carrique-Mas *et al*., 2010). As lesões associadas à salmonelose incluem enterocolite, nódulos paratifóides no fígado, focos necróticos no rim, pneumonia e esplenomegalia (Gelberg, 2018). A alta taxa de mortalidade e a queda na produção dos animais acometidos tornam a salmonelose um problema econômico significativo, além de apresentar um risco à saúde pública, especialmente devido à sua natureza zoonótica (Mohler *et al*., 2009). Para combater a salmonelose, os produtores rurais frequentemente utilizam antibióticos. No entanto, o uso indiscriminado desses medicamentos tem contribuído para o aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos, um problema global que afeta tanto a saúde animal quanto a saúde humana (Mota *et al*., 2005; Cades *et al*., 2017).

Em busca de alternativas para enfrentar a resistência antimicrobiana, a pesquisa sobre medicamentos fitoterápicos com finalidades antibacterianas tem crescido na literatura acadêmica. A utilização de plantas com fins medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das práticas mais antigas da humanidade, sendo a base para a produção de muitos medicamentos modernos (Pinto *et al*., 2006). As plantas produzem uma vasta gama de metabólitos secundários, que desempenham um papel crucial na sua defesa contra agentes externos, como doenças, pragas e radiação solar (Divekar *et al*., 2022). Dentre as propriedades farmacológicas das plantas, destacam-se efeitos tranquilizantes, analgésicos, antivirais,

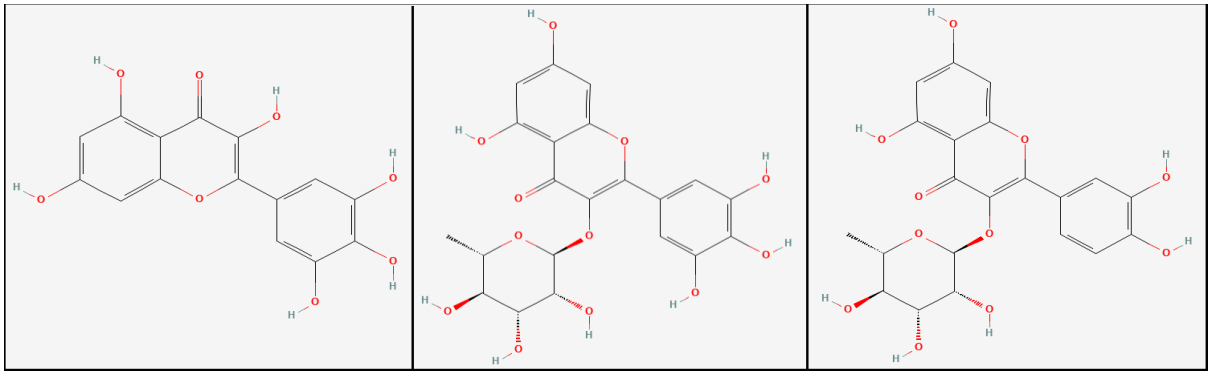
fungicidas e inseticidas, com aplicações diversas na terapêutica médica, na indústria de cosméticos e na produção de alimentos (Silva; Aquino, 2018).

As propriedades antibacterianas das plantas são atribuídas principalmente a metabólitos secundários, como óleos essenciais, flavonoides e cumarinas, que têm demonstrado grande eficácia em estudos e na medicina popular para o tratamento de doenças (Neto; Lopes, 2007). Esses compostos não apenas protegem as plantas contra fatores bióticos adversos, garantindo sua sobrevivência, mas também são reconhecidos pelo seu alto potencial bioterapêutico, contribuindo para a proteção do organismo humano (Vizzotto *et al*., 2010).

Entre as plantas medicinais, a aroeira (*Schinus terebinthifolius*) é endêmica no Brasil e se destaca por suas propriedades terapêuticas, amplamente discutidas na literatura devido aos metabólitos encontrados nessa espécie vegetal. Os princípios ativos da aroeira incluem uma série de atividades terapêuticas, como propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, cicatrizantes, adstringentes, antidiarreicas, depurativas, diuréticas e febrífugas, tornando-a de grande importância para a fitoterapia (Paiva; Aloufa, 2009; Azevedo *et al*., 2015).

As cascas, sementes, frutos e folhas da aroeira são amplamente utilizadas na composição de fitoterápicos, devido à diversidade de constituintes químicos, como taninos e polifenóis. Na folha, foram identificadas substâncias responsáveis pela atividade antioxidante, como os galatos de metila e etila, além de flavonoides como miricetina, miricetrina e quercitrina (Figura 1, da esquerda para a direita respectivamente), que são inéditas no gênero, segundo o estudo de Ceruks *et al*. (2007).

**Figura 1** - Estruturas químicas dos flavonoides (miricetina, miricetrina e quercitrina)



Fonte: pubchem.ncbi.nlm.nih.gov.

O extrato etanólico das folhas de *S. terebinthifolius* também possui potencial citotóxico in vitro frente a diversas linhagens celulares de câncer, como melanoma humano (A2058), carcinoma cervical (HeLa), adenocarcinoma da mama (MCF7), leucemia (HL-60), além de

apresentar atividade inibitória contra várias bactérias, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella* Typhimurium (Santana *et al*., 2012; Gomes *et al*., 2013; Silva *et al*., 2021).

## 3.1 *Schinus terebinthifolius* Raddi

*Schinus terebinthifolius* Raddi é o nome científico da espécie de árvore popularmente conhecida como aroeira, aroeira-vermelha, pimenta-rosa, aroeira-pimenteira, aroeira-da-praia, aroeira-do-campo, aroeira-do-brejo, aroeira-de-remédio, aroeira-de-sabiá, aroeira-do-paraná e aguaraíba, os nomes populares variam conforme a região em que se encontram no território brasileiro (Ribas *et al*., 2006; Tonial, 2010; Neves *et al*., 2016).

O termo aroeira se deu pelo nome das araras, aves que eram vistas pousando com maior frequência nesta árvore, fazendo da mesma seu habitat (Sousa, 2004). *S. terebenthifolius* Raddi (Figura 2) pertence à família Anacardiaceae, também é conhecida botanicamente como: *Schinus terebinthifolius* var. *acutifolius* Engl., *Schinus terebinthifolius* var. *pohlianus* Engl.; *Schinus terebinthifolius* Raddi var. *rhoifolius* (Mart.) Engl., *Schinus aroeira* Vell., *Sarcotheca bahiensis Turcz., Schinus mucromulata* Mart., *Schinus chichita* Speg., *Schinus rhoifolus* Mart., *Schinus selloana*, *Schinus raddiana* e *Schinus riedeliana* (Carvalho, 2003, Salvi Júnior, 2009).

**Figura 2** - Aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi)



Fonte: autoria própria.

Quanto à taxonomia, é classificado como pertencente ao reino Plantae, superdivisão Embriófitos, divisão Traqueófita, subdivisão Espermatofitina, classe Magnoliopsida, subordem Rosanae, ordem Sapindales, família Anacardiaceae, gênero *Schinus* L., espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi (Itis, 2024).

A família é subdividida em aproximadamente 73 gêneros e 850 espécies, ocorrendo normalmente em ambientes secos e úmidos de territórios tropicais e subtropicais; sendo dessas 14 gêneros e 57 espécies endêmicas do Brasil (Sequeda-Castañeda *et al.*, 2021). Sendo que, esta família engloba gêneros bem conhecidos como a manga (*Mangifera indica* L,) e caju (*Anacardium occidentale* L.) (Silva, 2015; Rorato *et al.*, 2018) e não possui parentesco com a família das pimentas, apesar de lembrar uma pequena pimenta rosa avermelhada (Gomes *et al.*, 2013). Na medicina popular tem sido empregada no tratamento para infeções urinárias, reumatismo, anti-inflamatório para feridas (Ministério da Saúde, 2021).

Os usos etnobotânicos de *S. terebinthifolius* abrangem ornamentação, culinária e medicina tradicional. Seu fruto é usado como tempero, substituindo ou complementando a pimenta do reino. Na medicina popular tem sido empregada como tratamento de várias doenças devido as suas propriedades cicatrizantes, antiulceroso, anti-inflamatória, antimicrobiana,

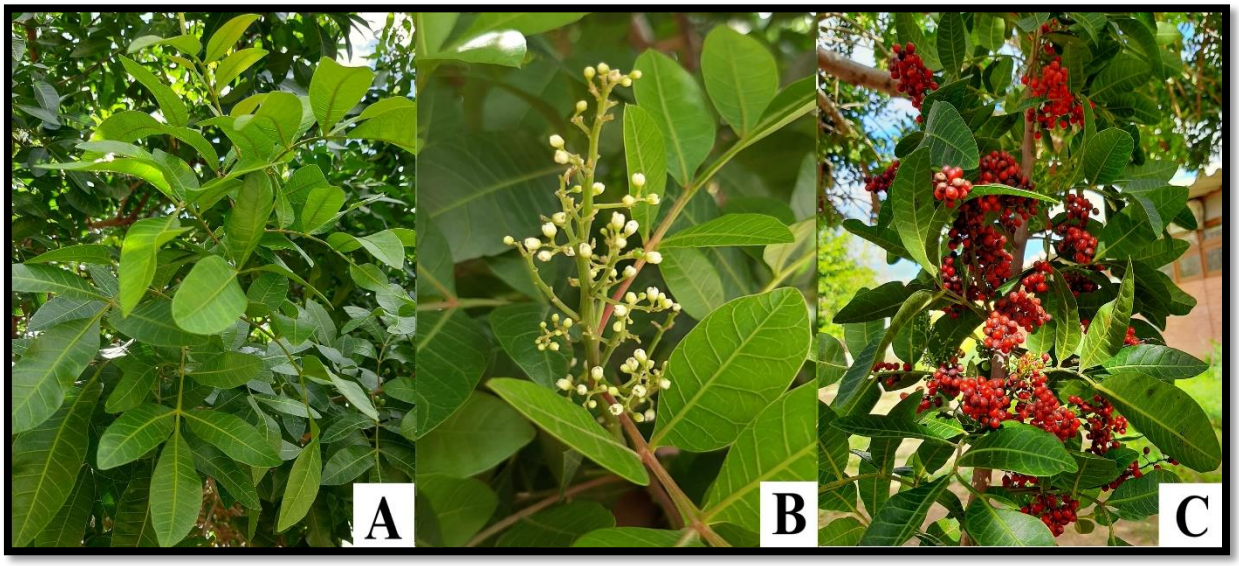
antirreumático, antidiarreico, adstringente e antioxidante. (Oliveira *et al*., 2020; Ministério da Saúde, 2021).

A decocção da casca do caule tem sido utilizada para tratar diferentes inflamações, principalmente a cervicites e como cicatrizante (Amorim; SANTOS, 2003; Azevedo; Quirino; Bruno, 2015). Estudos demonstraram que o extrato hidroalcoólico das folhas de aroeira-vermelha apresentou importantes propriedades anti-inflamatórias na pleurisia e artrite, incluindo uma inibição acentuada do influxo de neutrófilos e diminuição de mediadores inflamatórios (Rosas *et al.*, 2015).

Essa árvore quando jovem pode chegar a medir entre 5 a 10 metros de altura e aproximadamente 15 metros quando adulta. O tronco é sinuoso, curto, copa larga, cilíndrica e não muito denso. Suas folhas têm 3 a 10 pares de folíolos imparipinados aromáticos medindo de 3 a 5 centímetros de comprimento por 2 a 3 centímetros de largura. Contêm flores brancas, pequenas, pentâmeras, actinomorfas, dialissépalas e dialipétalas, dispostas em inflorescências compostas do tipo panícula racemosa e piramidal. Os frutos, são drupas de vermelho vivo, de 4 a 5 milímetros de diâmetro, redondo, em cachos, aromáticos e bem vistosos, é popularmente conhecido como pimenta rosa, sendo usado como condimento. Enquanto a casca, as folhas e as raízes são compostos utilizados na medicina popular, devido às suas propriedades anti-inflamatórias, antipiréticas e analgésicas (USP, 2012; Carvalho *et al*., 2013; Neves *et al*., 2016; Rosas *et al*., 2019). Algumas particularidades morfológicas da aroeira-vermelha podem ser observadas na Figura 3.

O sabor da pimenta-rosa é semelhante ao da pimenta-do-reino, porém ligeiramente mais suave (Oliveira *et al*., 2018). Essa característica, aliada ao seu aroma agradável, faz dela uma adição popular em diversas preparações culinárias, desde pratos gourmet até condimentos mais comuns. Devido a essas propriedades organolépticas, a pimenta-rosa é utilizada para incrementar pratos salgados, como carnes de aves e peixes, assim como doces, incluindo sobremesas e chocolates (Pela, 2014; Costa, 2021).

**Figura 3** - Orgãos reprodutivos e vegetativos da aroeira-vermelha




(A) Folhas. (B) Inflorescência. (C) Frutos maduros. Fonte: autoria própria.

*Schinus terebinthifolius* Raddi é oriundo da América do Sul, incluindo o Brasil, Paraguai, Uruguai e Leste da Argentina (Azevedo *et al*., 2015; Lorenzi; Matos, 2021). No Brasil, é encontrada desde o nordeste (em Pernambuco) até região sul (no Rio Grande do Sul). Sendo adaptável a vários tipos de solo e clima (Neves *et al*., 2016). Desse modo, segundo Rorato *et al.* (2018) a aroeira-vermelha é adaptada a solos com escassez hídricas, físicas, químicas e em regiões frias propensas a geadas. O seu plantio é aconselhado para áreas de reflorestamento.

A aroeira tem sido largamente estudada devido suas propriedades terapêuticas, com destaque para as atividades antimicrobianas, anti-inflamatória, antioxidantes, cicatrizante, antitumoral e larvicidas (Azevedo *et al.*, 2015; Silva-Neto *et al.*, 2018). Análises fitoquímicas mostraram a presença de saponinas, antocianinas, compostos fenólicos, taninos, flavonoides e triterpenos nos frutos e compostos fenólicos, esteróides, flavonoides e flavonas nas folhas (Costa *et al.*, 2015; Tlili *et al*., 2018). *S. terebinthifolius* contém óleo essencial bem distribuído nas suas partes vegetais, como tronco, folhas e frutos. Nas folhas e frutos foi constatado oléos essenciais formados por monoterpenos e sesquiterpenos (Lorenzi; Matos, 2021). A Tabela 1 demonstra os compostos químicos identificados na aroeira.

Um estudo realizado por Nascimento *et al*. (2023) demonstrou que o extrato em acetato de etila das folhas de *S. terebinthifolius* promoveu um efeito anti-inflamatório tópico em modelo animal de doença aguda e mostrou atividade antioxidante tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

**Tabela 1 -** Compostos químicos encontrados na espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi

| Partes da Planta | Compostos | Referências |
|---|---|---|
| **Folhas** | Ácido beênico, Ácido cafeeico, Ácido chiquímico, Ácido digálico metílico, Ácido digálico, Ácido digaloilchiquímico, Ácido eicosanoico, Ácido gálico, Ácido galoil-chiquímico, Ácido heneicosanoico, Ácido hidroxibenzóico-O-hexosídeo, Ácido oxo-di-hidroxi-octadecenóico, Ácido pirogálico, Ácido protocatecuico, Ácido rosmarínico, Ácido siringênico-O-hexosídeo, Ácido trigálico, Afzelina, Amentoflavona, Apigenina Ácido palmítico, Catequina, Cloreto de ácido gálico, Cloreto de galato de etila, Cloreto de galato de metila, Digaloil glicose, Epicatequina O-galato, Galato de etila, Galato de metila, Galoil-glicose, Kaempferol-O-pentosíde, Miricetina, Miricetina-O-hexosídeo, Miricitrina, Pentagaloilglicose, Quercetina, Quercetina-O-hexosídeo, Quercetina-O-pentosídeo, Quercitrina, Schinol, Tetrahidroamentoflavona, *trans*-catequina. | Ceruks *et al.*, 2007; Santana *et al.*, 2012; Uliana *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2018; Gomes *et al.*, 2020; Carneiro, 2021; Nascimento *et al*., 2023. |
| **Frutos** | Ácido beênico, Ácido eicosanoico, Ácido esteárico, Ácido gálico, Ácido heneicosanoico, Ácido palmítico, Ácido 3α-hidroximasticadienólico, Agastisflona, Galato de etila, Galotanina, Nangenina, Schinol, Tetrahidroamentoflavona, 3-O-galactosídeo, 7-O-metilpelargonidina | Santana *et al.*, 2012; Lima *et al.*,2017; Silva *et al.*, 2018. Oliveira *et al.*, 2020. |
| **Folhas + flores + frutos** | Ácido anacárdico, Ácido chiqímico, Digalato de metila, Elemo, Galato de etila, Galato de metila, Germacreno D, α-felandreno, α-pineno, β-pineno. | Santana *et al.*, 2012; Carneiro, 2021. |
| **Óleo essencial (folhas e frutos)** | Ácido esteárico, Lemoneno, Linalol, Mirceno, Sabineno, α-Cadieno, α-Humuleno, β-Elemeo, β-Pipeno. | Barbosa *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2009; Uliana *et al.*, 2016; Sales *et al.*, 2019. |

Fonte: Autoria própria.

### 3.1.1 Propriedades antimicrobianas

Estudos apontam a eficácia da utilização das folhas da aroeira-vermelha para inibir o crescimento de microrganismos patogênicos ao ser humano como *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* (Uliana *et al.*, 2016; Silva Neto *et al.*, 2018; Pacheco *et al.*, 2022). Silva *et al.* (2017) descreveram ação antimicrobiana a partir dos frutos dessa planta frente a bactéria *Staphylococcus aureus.*

Nesse contexto, em meio a inúmeros compostos químicos com propriedades antimicrobianas dos extratos da aroeira-vermelha, pode-se citar o ácido hidroximasticadienóico, o ácido terebinthifólico, o ácido ursólico e a terebinthona. São nos frutos o principal local onde se encontram os óleos essenciais (Bendaoud *et al*., 2010).

O óleo essencial de *S. terebinthifolius* Raddi apresenta mono e sesquiterpenos que atuam como antimicrobianos, provocando efeitos bactericida e bacteriostático, um provável agente contra infecções, inclusive em ambiente hospitalar (Silva-Neto *et al.*, 2018; Santos *et al*., 2019). Segundo Santos *et al.* (2019) o óleo essencial do fruto verde não apresenta atividade antimicrobiana, no entanto maduro pode inibir de forma eficiente, em diferentes concentrações, o crescimento bacteriano de *Acinetobacter baumannii* produtora de metalo-beta-lactamase e oxacilinases. Também extratos preparados a partir das frutas foram eficientes contra *Escherichia coli, Listeria innocua* e *Bacillus subtilis* (Silva *et al*., 2018; Linden *et al*., 2020).

O óleo essencial dos frutos, assim como o extrato hidroalcóolico das folhas da aroeira proporcionam efeito antibacteriano contra a cepa de *E. coli* ATCC 25922. Essa bactéria é do tipo Gram-negativa e aeróbia, conjuntamente está associada a quadros de infecções urinárias, na corrente sanguínea, intestinais, entre outros (Greatti *et al.*, 2014).

Conforme Costa (2011), o extrato etanólico das folhas de *S. terebinthifolius* demonstrou atividade antimicrobiana sobre a bactéria *Enterococcus faecalis* e também foi capaz de inibir consideravelmente o crescimento de *Candida albicans* e *Candida tropicalis* sensíveis e resistentes a fluconazol. Além da inibição de microrganismos como *Enterococcus faecium e Staphylococcus aureus* (Gomes *et al*., 2020).

De acordo com Gomes *et al.* (2013), a lectina, proteína encontrada nas folhas, quando isolada evidencia efeito antimicrobiano, a partir das determinações das concentrações mínimas de inibição (CIM), bactericida (CBM) e fungicida (CFM). Tal proteína foi ativa *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus aureus*. Havendo melhores resultados bactericidas e

bacteriostáticos contra *Salmonella enteritidis* (CIM: 0,45 μg/mL) e *Staphylococcus aureus* (CBM: 7,18 μg/mL), respectivamente.

Geralmente, o extrato etanólico de aroeira conseguiu inibir o crescimento de bactérias gram-negativas e gram-positivas, mas verificaram-se mais casos de resistência aos extratos no segundo grupo de bactérias (El-Massry *et al*., 2009; Gomes *et al*., 2013). A bactéria gram-negativa mais frágil aos extratos etanólicos da mesma foi *Eschirichia coli* (CIM: 0,078 mg/mL). E para a bactéria gram-positiva mais vulnerável para a *Pseudomonas aeruginosa*, (CIM: 0,60 mg/mL) para o solvente etanol (El-Massry *et al*., 2009).

Os extratos da aroeira-vermelha contêm diversas moléculas bioativas com atividades antimicrobianas, como biflavonoides, agatisflavona e tetrahidroamentoflavona. Esses compostos têm demonstrado potente atividade contra *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus carnosus* (Linden *et al*., 2020; Rocha *et al*., 2020). Além disso, a casca de *S. terebinthifolius* é rica em fenóis, triterpenos pentacíclicos e antraquinonas. No entanto, o método de extração utilizado pode alterar significativamente o perfil metabólico e fitoquímico dos extratos, bem como as propriedades das suas moléculas bioativas (Costa et al., 2015).

É importante destacar que nem sempre os extratos de aroeira produzem os efeitos bactericidas ou fungicidas esperados, que levam à morte dos microrganismos. Muitas vezes, o efeito observado é bacteriostático ou fungistático, impedindo apenas a multiplicação de bactérias e fungos (Vieira et al., 2014).

## 3.2 DIARREIA DOS BEZERROS

A diarreia neonatal de bezerros (DNB) é uma importante síndrome que afeta rebanhos bovinos de corte e leite em todo o mundo, causando graves prejuízos econômicos à bovinocultura (Oliveira *et al*., 2020). É uma das principais causas de morbidade e mortalidade entre bezerros, sendo responsável pelo retardo de crescimento e custos elevados de tratamento, além de provocar graves consequências a longo prazo (Richter *et al*., 2017; Marschik *et al*., 2018; Jessop *et al*., 2024).

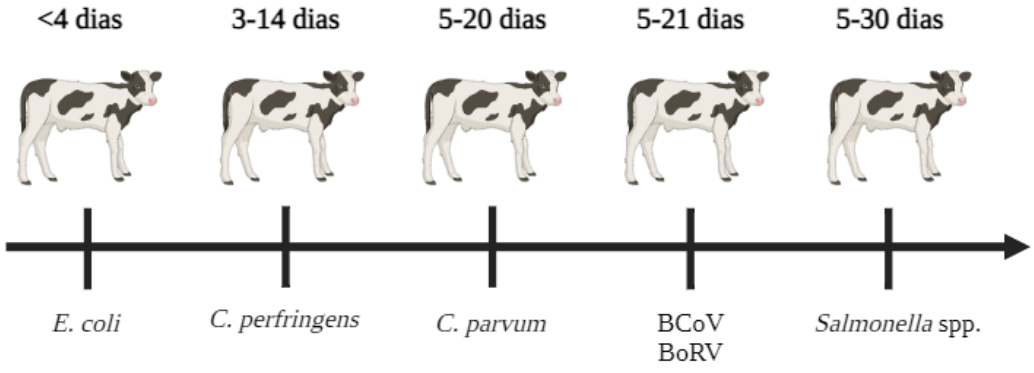
Em vários países, como Bélgica, Suécia, Itália, Suíça e Brasil, a prevalência e a incidência de fatores de risco para DNB foram relatadas como sendo de 19,1% e 33,7%, respectivamente (Papp *et al*., 2013; Collins *et al*., 2014). É a causa mais comum de morte em bezerros leiteiros e de corte durante os primeiros 30 dias de vida, com um risco de letalidade de aproximadamente 5% (Windeyer *et al*., 2014; Silva et al., 2019).

A gravidade e a intensidade da diarreia nesses animais dependem de vários fatores, como a idade e o estado nutricional das matrizes antes e após o parto, ocorrência de distocia, transferência passiva de imunoglobulinas, época do parto, carga de microrganismos infectantes presentes e condições climáticas (Oliveira *et al*., 2020). Assim, a diarreia neonatal é definida como um quadro clínico secundário a um processo infeccioso previamente estabelecido, estimulado por uma disfunção do trato digestório, caracterizada pelo aumento do número de evacuações e pela ocorrência de fezes líquidas (Silva et al., 2019; Oliveira et al., 2020; Vieira; Gomes, 2021).

Pode ser causada por agentes infecciosos, como vírus, bactérias e protozoários, sendo os principais agentes causadores o rotavírus bovino do grupo. Dentre os agentes enteropatogênicos envolvidos na etiologia, merecem destaque aquelas causadas por vírus (coronavírus - BCoV e rotavírus - BoRV), bactérias (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Clostridium perfringens*) e protozoários (*Cryptosporidium parvum* e *Eimeria* spp.) (Jessop *et al.*, *2024*; Chagas, 2015; Ribeiro Filho *et al.*, 2021). Na Figura 4 estão apresentados os principais agentes etiológicos relacionados à diarreia nos bezerros.

Esses patógenos podem estar envolvidos, individualmente ou em associação, por isso a BND é vista como uma síndrome, pois é uma doença multifatorial, resultando na interação de diversos fatores, como a imunidade dos bezerros, o ambiente e a nutrição, dificultando a identificação da origem do problema no rebanho e a realização de um tratamento adequado (Candido; Guerios, 2020).

**Figura 4** - Distribuição de patógenos associada à idade em bezerros com diarreia




Fonte: autoria própria

Independentemente do agente causador responsável pelo início da diarreia em bezerros, vários estudos relatam alterações significativas nas comunidades bacterianas da

microbiota intestinal durante a diarreia (Cho *et al*., 2013; Içen *et al*., 2013; Gómez *et al*., 2017). Esse fato se deve à capacidade que os agentes infecciosos têm de se aproveitar de quadros de baixa imunidade, tornando os animais mais predispostos a episódios graves da doença (Millemann, 2009).

Geralmente, esses quadros resultam em diferentes graus de conteúdo intestinal aquoso, edema, hiperemia, ulceração ou hemorragia intestinal, ocorrendo ainda perdas de água, nutrientes e eletrólitos (Gómez *et al*., 2017; Urie *et al.*, 2018). Essas perdas de fluídos fecais representam aproximadamente 0,3% do peso corporal, mas em casos intensos, podem atingir de 13% a 18% do peso corpóreo dentro de 24 horas (Vargas Júnior, 2015).

Os sinais clínicos mais importantes dos distúrbios intestinais em bezerros são semelhantes, independentemente do agente etiológico envolvido. Entre as consequências da diarreia, destacam-se a perda de peso, febre, desequilíbrio hídrico e eletrolítico, além de acidose metabólica (Radostitis *et al.*, 2007; Ribeiro Filho *et al*., 2021). Os sinais clínicos mais importante são fezes moles, fétidas, às vezes com estrias de sangue, febre na fase inicial, podendo ocorrer posteriormente hipotermia, inapetência, depressão, orelhas caídas, desidratação, emagrecimento rápido e traseiro sujo, principalmente na região da cauda e perineal (Coura; Lage; Heineann, 2014; Cho; Yoon, 2014; Gómez *et al.*, 2017).

Entre as consequências, podem-se citar a perda de peso, febre, desequilíbrio hídrico e eletrolítico, baixas concentrações sanguíneas de sódio e íon carbonato, hiperpotassemia (excesso relativo de potássio) e hipoglicemia (Radostitis *et al*., 2007; Facury Filho *et al*, 2013; Ribeiro Filho *et al.*, 2021). Para o diagnóstico, utilizam-se a anamnese, sinais clínicos e exames laboratoriais com amostras de fezes dos animais que apresentam sintomatologia clínica. No entanto, o diagnóstico definitivo não é simples, já que os principais agentes causadores podem estar presentes no trato digestivo de animais saudáveis, além disso, na maioria das vezes, ocorre a associação entre mais de um agente etiológico (Candido; Guerios, 2020; Oliveira *et al*., 2020; Rodrigues, 2021).

O tratamento deve ser iniciado o quanto antes para garantir a rápida recuperação da saúde do animal, diminuindo os custos e melhorando a sanidade do rebanho. Sendo utilizado antimicrobianos, levando em consideração os agentes envolvidos, a sensibilidade dos animais e a gravidade dos sinais clínicos (Rodrigues, 2021). Associado a anti-inflamatórios não esteroidais, como flunixin meglumine ou meloxicam, que possuem ação analgésica e antitérmica, além de fluidoterapia para reposição de energia, líquidos e eletrólitos perdidos durante o quadro de diarreia (Vargas Junior, 2015; Urie et al., 2018; Silva et al., 2019)

Em infecções bacterianas, os princípios ativos de primeira escolha para o tratamento de diarreia em bezerros com sinais de envolvimento sistêmico incluem amoxicilina, associada ou não ao clavulanato de potássio, ampicilina e sulfonamidas (Rodrigues, 2021). Em segunda escolha, estão as cefalosporinas de quarta geração, como cefquinona e ceftiofur (Radostitis *et al*., 2007; Ribeiro Filho *et al*., 2021).

Além dos fármacos, é necessário o acompanhamento de um profissional veterinário, que com o auxílio de informações do produtor, poderá determinar o melhor protocolo terapêutico, escolhendo os antibióticos adequados à realidade do sistema produtivo (Candido; Guerios, 2020). Bem como alterar a dieta, isolar animais jovens de adultos, adicionar solução oral de reidratação e garantir terapias rápidas para restabelecer a saúde do animal (Cho *et al*., 2013; Gómez *et al*., 2017).

## 3.3 SALMONELOSE

A salmonelose é uma doença infectocontagiosa mundialmente conhecida, causada por bactérias do gênero *Salmonella* spp., pertencentes à família Enterobacteriaceae (Silva, 2017). Ela é responsável por grandes prejuízos na produção animal e possui potencial zoonótico devido ao consumo de alimentos contaminados por humanos e animais, o que causa um impacto significativo na economia mundial, segundo a OMS, a salmonelose é a quarta causa mais importante de diarreia no planeta (Balasubramanian *et al.*, 2019). A *Salmonella* spp. são bactérias Gram-negativas, com dimensões entre 0,5 e 1,5 µm, geralmente móveis devido a flagelos, intracelulares facultativas, não formadoras de esporos e podem ser aeróbias ou anaeróbias facultativas (Marques *et al*., 2013; Strockbine *et al*., 2015).

Os sorovares de *Salmonella* são classificados em tifóide e não tifóides (SNT) de acordo com sua capacidade de desenvolver patogenicidade específica em humanos e animais (Issenhuth-Jeanjean *et al*., 2014). Os sorovares tifóides que causam febre tifóide e paratifóide em humanos incluem *S.* Typhi, *S.* Paratyphi A, B, C e *S.* Sendai (Townsend *et al*., 2001). Esses sorovares são altamente específicos do hospedeiro e são transmitidos apenas de hospedeiros infectados ou portadores através de alimentos e água contaminados (Ferrari *et al.*, 2019). A salmonelose tifóide é caracterizada por sua alta mortalidade e baixa morbidade (Dróżdż *et al.*, 2021). No entanto, o SNT inclui milhares de sorotipos, que incluem predominantemente *S.* Enteritidis, *S.* Typhimurium, *S.* Newport e *S.* Heidelberg, e pode infectar humanos e animais (Rabsch *et al*., 2001).

Alguns sorovares de SNT como *S.* Typhimurium, *S.* Abortusovis, *S.* Typhisuis, *S.* Gallinarum e *S.* Pullorum infectam principalmente pombos, ovinos, suínos, aves aquáticas e aves domésticas, respectivamente, enquanto *S.* Dublin e *S.* Choleraesuis infectam principalmente bovinos e suínos (Branchu *et al.*, 2018; Saraf *et al.*, 2021). Apesar das modificações taxonômicas, atualmente são bioquimicamente conhecidos aproximadamente 2.659 sorotipos, sugerindo que a salmonelose seja causada por duas espécies de bactérias: *Salmonella enterica* (subdividida em seis subespécies: *enterica, arizonae, salamae, indica, houtenae e diarizonae*) e *Salmonella bongori*. A escrita completa destes sorotipos ficaria *Salmonella enterica* subespécie *enterica* sorotipo Typhimurium, por exemplo. Apesar disso, neste trabalho será adotada a grafia simplificada, denominando o agente de *S.* Typhimurium e *S.* Dublin, tornando-se ocultas a espécie e a subespécie. Na figura 5, o meio Ágar SS (Salmonella-Shigella) é usado para isolar e identificar bactérias do gênero *Salmonella*, que são capazes de reduzir o sulfito para sulfeto de hidrogênio. As colônias dessa espécie aparecem com uma coloração preta devido à reação do sulfeto de hidrogênio com o sulfato de ferro, formando sulfeto de ferro preto. Isso é característico de *Salmonella* e ajuda a diferenciá-la de outras bactérias (Metre; Tennant; Whitlock, 2008; Paixão; Pinto; Santos, 2016; Ribeiro, 2017).

**Figura 5** - *Salmonella* Dublin e *Salmonella* Typhimurium em Àgar Salmonella-Shigella (SS)



Fonte: autoria própria

A principal forma de transmissão é pela via oral, através do consumo de alimentos contaminados e água (Helmy; El-Adawy; Abdelwhab, 2017). Ao ser ingerida, a *Salmonella*

alcança o intestino, até atingir o íleo distal e o ceco, se aderindo em suas mucosas através de mecanismos mediados pelas fímbrias (Silva, 2017). Após a adesão, essa bactéria se direciona ao epitélio intestinal, causando a ruptura e o afastamento das microvilosidades, permitindo a endocitose e migração pelo meio das células (Oliveira *et al.*, 2021; Jessop *et al.*, 2024). Essa ação, induz uma resposta inflamatória local, resultando em uma enterite fibrino-purulenta e necrosante principalmente no íleo (Santos *et al*., 2002; Galán *et al.*, 2021).

Com a destruição dos enterócitos e rompimento da mucosa, os animais apresentam quadros de diarreia e desidratação, levando a absorção de endotoxinas e permitindo a secreção de água, bicarbonato, proteínas e eletrólitos para o lúmen gastrointestinal, acarretando graves desequilíbrios hidroeletrolíticos e ácido-básico (Cho; Yoon, 2014; Gómez *et al*., 2017). Estas alterações podem estar acompanhadas de anorexia, hipertermia, depressão, diarreia, gastroenterite aguda, em que o agravamento do quadro pode evoluir em choque levando o animal à morte (Ekperigin; Nagaraja, 1998; Askari; Mashhad; Amini, 2020).

A invasão e colonização de *Salmonella* nas células hospedeiras dependem de vários fatores de virulência, como plasmídeos de virulência, sistemas de secreção tipo I e III, superóxido dismutase, fímbrias, flagelos, antígenos VI, toxinas, lipopolissacarídeos e biofilmes (Lamichhane *et al.*, 2024). Estes fatores, codificados por genes de virulência podem estar presentes em elementos genéticos móveis, como os plasmídeos, ou em regiões específicas do cromossomo bacteriano (ilhas de patogenicidade), infecta os macrófagos, provoca a inflamação da mucosa e os gânglios linfáticos se disseminam para os fagócitos, baço e fígado (Bessa, 2006; Vieira, 2009; Lou *et al*., 2019).

A infecção persistente por *Salmonella* pode causar síndrome do intestino irritável e câncer ao prejudicar a barreira mucosa, ativar T3 (tri-iodotironina) e levar a distúrbios imunológicos no hospedeiro, desequilibrando a microbiota local (Zha; Garrett; Sun, 2019).

### 3.3.1 Salmonelose em bovinos

Apenas os sorotipos de *Salmonella enterica* infectam os animais de sangue quente, e a ocorrência da salmonelose em ruminantes está diretamente relacionada à espécie bovina, causada principalmente pelo sorotipo *S*. Dublin e *S.* Typhimurium (Issenhuth-Jeanjean *et al*., 2014; Ribeiro, 2017).

A via fecal-oral representa a principal via de transmissão, e o desenvolvimento da doença está associado à eficiência bacteriana em invadir a mucosa intestinal, pois a bactéria migra e se instala no sistema digestório, especialmente nas porções terminais do íleo e ceco

resultando no aparecimento dos sinais clínicos, variado de acordo com a idade e sorotipo envolvido (Wray; Davies, 2000; Radostits *et al*., 2007). Além de colonizar tecidos linfóides e evadir a resposta imune do hospedeiro. Os animais afetados ou portadores assintomáticos podem disseminar a doença no rebanho (Peek *et al.*, 2004; Mohler *et al*., 2009).

Caso a infecção não avance, a bactéria continuará no trato gastrintestinal como parte da microbiota, sendo excretada pelas fezes. Mas quando há evolução da infecção, a *Salmonella* penetra a parede intestinal e provoca destruição de enterócitos, estimulando reação inflamatória caracterizada por enterite fibrinopurulenta, com perda de água, eletrólitos, bicarbonato e proteínas para o lúmen intestinal, ocasionando grave desequilíbrio hidroeletrolítico (Santos *et al.*, 2002).

Deste modo, a salmonelose em bovinos apresenta infecções entéricas agudas, caracterizadas por sinais clínicos como febre, perda de apetite, letargia e diarreia aquosa ou mucóide contendo fibrina e sangue, septicemia, doença respiratória, perda de peso e abortos (Nielsen, 2003; Carrique-Mas *et al*., 2010). As lesões incluem enterocolite, pneumonia, nódulos paratifóides no fígado, focos necróticos no rim e esplenomegalia (Gelberg, 2018). Por outro lado, as infecções sistêmicas tendem a ser mais prevalentes entre animais mais jovens. Notavelmente, o aborto foi extensivamente registrado em bovinos atribuídos especificamente aos sorotipos *S.* Typhimurium e *S.* Dublin (Habrun *et al.*, 2006; Vanselow *et al.*, 2007).

Bezerros com menos de 6 meses de idade são mais vulneráveis à doença e podem ser infectados algumas horas após o parto; entretanto, bovinos adultos também podem desenvolver a doença clínica (Nielsen, 2003; Mohler *et al*., 2009). A salmonelose em bovinos é frequentemente caracterizada por diarreia aquosa ou mucóide contendo fibrina e sangue, septicemia, doença respiratória, perda de peso e abortos (Nielsen, 2004; Carrique-Mas *et al*., 2010). As lesões incluem enterocolite, pneumonia, nódulos paratifóides no fígado, focos necróticos no rim e esplenomegalia (Gelberg, 2018).

Ainda assim, por serem bactérias intracelulares facultativas, podem se multiplicar e sobreviver dentro de macrófagos, sendo posteriormente transportadas aos linfonodos mesentéricos e a outros órgãos, causando pneumonia, poliartrite, osteíte, meningite, dentre outras complicações (Wray; Davies, 2000; Loeb *et al*., 2006). O período de incubação pode variar de um a quatro dias e ocorrer morte súbita, ou depois de um período entre três a sete dias em 10 a 50% dos bezerros infectados. Os achados de necropsia incluem enterite catarral, hemorrágica ou necrótica, evidenciadas nas regiões do íleo e intestino grosso,

aumento de linfonodos mesentéricos, focos necróticos e granulomas nos rins, baço e fígado, pneumonia fibrinopurulenta, osteíte e poliartrite (Wray; Davies, 2000).

Essa bactéria tem capacidade de permanecer por vários meses ou até anos no ambiente e animais cronicamente infectados são disseminadores constantes. Para realizar o diagnóstico é importante realizar uma anamnese detalhada, associada a sinais clínicos e exames laboratoriais através do isolamento de amostras de fezes (Vasconcelos, 2019). Para realizar o tratamento é necessário utilizar antibióticos, de amplo espectro, como o cloranfenicol e a trimetoprima/sulfametoxazol, sendo amplamente utilizado as quinolonas de terceira geração, como as fluoroquinolonas, incluindo ciprofloxacina e ofloxacina, são o medicamento de escolha (Galán, 2021; Jibril *et al.*,2021).

Devido à crescente resistência bacteriana contra fluoroquinolonas, cefalosporinas como a ceftriaxona e macrólidos como a azitromicina estão sendo utilizados como tratamento empírico para controlar infecções por *Salmonella* (Hailu *et al*., 2021; Ashurst; Truong; Woodbury, 2024). Também pode ser utilizado probióticos para o tratamento, atualmente apresenta-se como uma abordagem multifacetada, e mais estudos precisam ser realizados para determinar se a sua eficácia depende de fatores específicos da cepa do patógeno ou se é influenciada por variáveis como como dosagem de probióticos, método de administração, duração do tratamento, características do hospedeiro (incluindo idade) e outros fatores relacionados ao manejo (Chang *et al.*, 2020).

## 3.4 RESISTÊNCIA BACTERIANA

A resistência aos agentes antimicrobianos não é um fenômeno novo nas bactérias (Alves, 2021). Os primeiros relatos de resistência surgiram com a utilização da penicilina, que foi o primeiro antibiótico a ser comercializado e teve seu uso disseminado em larga escala, sendo utilizado não apenas para infecções, mas também para dores e febres em geral (Costa; Silva Júnior, 2017). Como consequência, surgiram os primeiros organismos resistentes, devido à produção de enzimas como as beta-lactamases (Urbaneja; Urbaneja, 2024).

O uso de antibióticos geralmente é a primeira opção utilizada no tratamento de diversas enfermidades para animais e seres humanos. Mas a utilização de drogas antimicrobianas tanto em animais quanto no homem de forma indiscriminada, estabelece um aumento gradual da resistência antimicrobiana nos microrganismos de sua microbiota normal e de bactérias patogênicas causadoras de doenças (Mota *et al*.,2005; Marques *et al*., 2013).

A resistência antimicrobiana (RAM) ocorre quando microrganismos patogênicos não respondem mais aos medicamentos antimicrobianos (Who, 2023). Como resultado da resistência aos medicamentos, os antibióticos e outros medicamentos antimicrobianos tornam-se ineficazes e as infecções tornam-se difíceis ou impossíveis de tratar, aumentando o risco de propagação de doenças, doenças graves, incapacidade e morte (Alves, 2021; Costa; Silva Júnior, 2017). Esse fenômeno ocorre quando as bactérias desenvolvem a capacidade de sobreviver a doses usuais de agentes antimicrobianos, como antibióticos, tornando-se menos suscetíveis aos efeitos desses medicamentos (Urbaneja; Urbaneja, 2024).

Podendo ocorrer por diversos mecanismos apresentados pelas bactérias, entre eles: mudança na permeabilidade da membrana celular que impede a entrada do antibiótico na célula ou faz com que ocorra o efluxo desse para fora da célula, por uma mutação que altera o alvo de um antibiótico de modo que o novo alvo não seja afetado, ou pela aquisição da bactéria de degradar ou inativar o antibiótico (Baptista, 2013; Estrela, 2018; Lima *et al*., 2020; Teixeira; Figueiredo; França, 2019).

Também pode ocorrer quando uma bactéria resistente entra e contato com outra sensível, denominada de resistência transferível, através dessa transmissão ocorre por elementos genéticos extracromossomais denominados plasmídios (Teixeira; Figueiredo; França, 2019; Lima *et al*., 2020;). O plasmídio R (resistência) engloba um conjunto de genes que determinam a resistência aos antibióticos (fator R) e genes FTR (fator de transferência de resistência) que controlam a replicação autônoma do plasmídeo e são encarregadas pela transferência de resistência a demais bactérias (Mota *et al*., 2005; Arias *et al*., 2012).

É um fenômeno complexo e crescente que representa uma ameaça substancial à eficácia dos tratamentos antimicrobianos em ambientes médicos, veterinários e em saúde pública em geral (Marques *et al.*, 2023; Teixeira *et al.*, 2019). O tratamento indiscriminado de animais com antibióticos torna os seus produtos e derivados, fonte para resistência aos antibióticos aos humanos. O desenvolvimento de resistência, por determinadas bactérias patogênicas é mais rápido que a capacidade da indústria para produzir novas drogas (Mota *et al*., 2005; Cades *et al*., 2017).

As fluoroquinolonas foram incluídas a partir de 1980 na Europa e posteriormente em 1995 nos Estados Unidos da América para o tratamento da salmonelose na medicina veterinária (Bager; Helmuth, 2001). O desenvolvimento de resistência em *Salmonella* foi relatado por mutação cromossômica e exclusivamente por disseminação epidêmica de cepa mutante por disseminação clonal. Nos últimos anos, a ceftriaxona e a azitromicina tornaram-se os

medicamentos secundários de escolha para o tratamento da febre tifóide devido ao surgimento de cepas resistentes às fluoroquinolonas (Klemm *et al*., 2018). Para animais e aves, os antibióticos são incorporados na ração e na água para controlar infecções (Dekker *et al*., 2019).

A taxa de alimentação varia e está sujeita a subdosagem de medicamentos, levando a um aumento da pressão seletiva sobre cepas de *Salmonella* e induzindo o desenvolvimento de cepas resistentes (Teixeira; Figueiredo; França, 2019). Além disso, mesmo para salmonelose clínica, esses medicamentos, como as fluoroquinolonas, não são amplamente utilizados para tratamento, novamente forçando a *Salmonella* a adquirir resistência (Dekker *et al*., 2019).

Os antibióticos desempenham um papel crucial no tratamento de doenças infecciosas bacterianas em diversas espécies animais, variando conforme o período de tratamento, as vias de administração e a espécie animal. Apesar da ampla variedade de antibióticos disponíveis, enfrentamos desafios e problemas associados à administração desses medicamentos em animais. Assim, surge uma necessidade premente de maior fiscalização sobre o uso adequado de antibióticos (Klemm *et al*., 2018; Dekker *et al*., 2019).

Os antibióticos desempenham um papel crucial no tratamento de doenças infecciosas bacterianas em diversas espécies animais, variando conforme o período de tratamento, as vias de administração e a espécie animal. O desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, como o direcionamento da bomba de efluxo e outros mecanismos de resistência, são necessárias para combater o desenvolvimento da resistência a múltiplos medicamentos na *Salmonella* (Teixeira; Figueiredo; França, 2019).

A antibioticoterapia sequencial e a rotação de antibióticos que reduzem os efeitos colaterais ganharam atenção nos últimos anos. No entanto, estas abordagens podem favorecer a resistência cruzada a diferentes grupos de antibióticos (Vestergaard *et al*., 2016). A avaliação da resistência cruzada em diferentes cepas de *Salmonella* Typhimurium sob tratamento antibiótico sequencial mostrou que estratégias terapêuticas eficazes, seleção adequada e antibioticoterapia auxiliam na prevenção da resistência cruzada. (Dawan; Ahn, 2020).

## REFERÊNCIAS


ALMEIDA, M. Z. Plantas medicinais: abordagem histórico-contemporânea. **In Plantas Medicinais** (Vol. 3), 2011.

ALÓS, J. I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, 2015.

ALVES, J. W. S. Antibióticos e mecanismos de resistência bacteriana: Uma questão de saúde pública. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, v. 4, n. 1, p. 15-37, 2021.

AMORIM, M. M. R; SANTOS, L. C. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 25, n. 2, 2003.

ARIAS, M. V. B; CARRILHO, C. M. D. M. Antimicrobial resistance in animals and in human being. There is reason for concern? **Semana: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n.2, p. 775-790, abr. 2012.

ASHURST, J. V; TRUONG, J; WOODBURY, B (*Salmonella* Typhi) (Archived). 2023 Aug 8. In: **StatPearls** [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024.

ASKARI, N; MASHHAD, R. S; AMINI, K. A case control study of *Salmonella* spp. infection in stray dogs in Tehran shelters and the correlation between paraclinical tests results and clinical findings. ***Arch. Razi Inst***. 2020.

AZEVEDO, C. F., *et al*. Estudo farmacobotânico de partes aéreas vegetativas de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae). **Revista brasileira de plantas medicinais**, 2015.

BALASUBRAMANIAN, R., *et al*. The global burden and epidemiology of invasive non-typhoidal *Salmonella* infections. **Hum. Vaccines Immunother**. 2019.

BARBOSA, L. C. A., *et al*. Seasonal variation in the composition of volatile oil from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1959-1965, 2007.

BENDAOUD, H., *et al*. Chemical Composition and Anticancer and Antioxidant Activities of *Schinus Molle* L. *and Schinus terebinthifolius* Raddi Berries Essential Oils. **Journal Food Science**, 2010.

BESSA, M. C. Caracterização fenotípica e genotípica de amostras de *Salmonella* spp. Em linguiças resfriadas comercializadas no estado do Paraná. **Dissertação** (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia) – Universidade do Paraná, 2009.

BORRIELLO, G., *et al*. Diversity of *Salmonella* spp. serovars isolated from the intestines of water buffalo calves with gastroenteritis. **BMC veterinary research**. 2012.

BRANCHU, P., BAWN, M.; KINGSLEY, R.A. Genome variation and molecular epidemiology of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium pathovariants. **Infection and Immunity**, 2018.

BRASIL. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 156 p. 2012.

CADES, M., *et al*. Perfil de resistência antimicrobiana de mastite bovina em propriedade leiteira no município de Monte Negro/RO. **Revista Brasileira de Ciências da Amazônia/Brazilian Journal of Science of the Amazon**. v.6 (1), p 15-20. 2017.

CANDIDO, A. A; GUERIOS, E. M. A. Problemas associados à diarreia neonatal na bovinocultura leiteira. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG**, v. 3, n. 1, p. 121-131, 2020.

CARDOSO, M. Antimicrobial use, resistance and economic benefits and costs to livestock producers in Brazil. **Food, Agriculture and Fisheries Papers**, 2019.

CARNEIRO, M. J. Composição química e atividades biológicas de extratos etanólicos e óleos essenciais de *"Schinus terebinthifolius"* Raddi. **Tese** de Doutorado - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Faculdade de Ciências Farmacêuticas Campinas, São Paulo, 2021.

CARRIQUE-MAS, J. J., *et al*. *Salmonella* infection in cattle in Great Britain, 2003 to 2008. **Veterinary Record**, v.167, p.560- 565, 2010.

CARVALHO, M. G., *et al*. *Schinus terebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 2013.

CARVALHO, P. E. R. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas. **Espécies arbóreas brasileiras**, v. 1, p. 159-168, 2003.

CERUKS, M., *et al*. Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebentifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Química Nova**.v. 30, nº3, pág. 507-599, 2007.

CHANG, C. H., *et al*. Effects of multi-strain probiotic supplementation on intestinal microbiota, tight junctions, and inflammation in young broiler chickens challenged with Salmonella enterica subsp. enterica. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. *33*, n. 5, p. 1797 – 1812, 2020.

CHO, Y.-I., *et al*. An overview of diarrhea in calves – infectious etiology, diagnosis and intervention. **Journal of veterinary Science**, v.15, n. 1, p. 1–17, 2014.

CIOCH, M., *et al*. Characterisation of antimicrobial properties of extracts of selected medicinal plants. **Polish Journal of Microbiology**, 2017.

COLLINS, P. J., *et al*. Detection and characterization of bovine rotavirus in Ireland from 2006-2008. **Irish veterinary journal**, 2014.

COSTA, A. L. P; SILVA JÚNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e saúde pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, 2017.

COSTA, C. O. D. S. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de *Myracrodruon Urundeuva* Allemão e *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Dissertação** (Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) - Instituto de Ciências da Saúde. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

COSTA, C. O. S., *et al*. Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of extracts prepared from different tissues of *Schinus terebinthifolius* Raddi that occurs in the coast of Bahia, Brazil. **Pharmacognosy Magazine**, 2015.

COSTA, I. D. C. Estudo fitoquímico, atividade antibacteriana e fitotóxica de extratos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Dissertação** (Programa de Pós-graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal do Paraná, Palontina, 2021.

COSTA, L. F., *et al*. Salmonellosis in cattle: advantages of being an experimental model. **Research in Veterinary Science**, v.93, p.1–6, 2012.

COURA, F. M.; LAGE, A. P.; HEINEMANN, M. B. Patotipos de *Escherichia coli* causadores de diarreia em bezerros: uma atualização. Pesquisa Veterinária Brasileira - **Brazilian Journal of Veterinary Research**, v. 2, n. 1, p. 811-818, 2014.

CUMMINGS, K. J., *et al.* The incidence of salmonellosis among dairy herds in the northeastern United States. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.3766–3774, 2009.

DAWAN, J; AHN, J., Assessment of cross-resistence potential to serial antibiotic treatments in antibiotic-resistant *Salmonella* Typhimurium. **Microbial pathogenesis**, Nov; 148:104478. 2020.

DEKKER, D., *et al.* Fluoroquinolone-Resistant *Salmonella enterica*, *Campylobacter* spp., and *Arcobacter butzleri* from Local and Imported Poultry Meat in Kumasi, Ghana. **Foodborne Pathogens and Disease**, 2019.

DIVEKAR, P.A., *et al*. Plant Secondary Metabolites as Defense Tools against Herbivores for Sustainable Crop Protection. **International journal of molecular sciences**. May; 16(5):352-358. 2022.

DRÓŻDŻ, M., *et al.* Zoonotic potential and prevalence of *Salmonella* serovars isolated from pets. **Infection Ecology & Epidemiology**, 11(1). 2021.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista Multiciência: Construindo a História dos Produtos Naturais**, 2006.

EL-MASSRY K. F., *et al*. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** 2009.

FALZON, C. C; BALABANOVA, A. Phytotherapy: an introduction to herbal medicine. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, 2017.

FERRARI, R.G., *et al*. Worldwide epidemiology of Salmonella serovars in animal-based foods: A meta-analysis. **Applied and Environmental Microbioly**, 2019.

FIRMO, W. da C. A., *et al*. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, 2012.

FOSTER D. M; SMITH G.W. Pathophysiology of diarrhea in calves. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Mar; 25(1):13-36, xi. 2009.

GALÁN, J. E. *Salmonella* Typhimurium e inflamação: um assunto centrado em patógenos. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 2, p. 716–725, 2021.

GELBERG, H. B. Alimentary system and the peritoneum, omentum, mesentery, and peritoneal cavity. In: JF ZACHARY, **Pathologic Basis of Veterinary Disease**, 6.ed. SaintLouis, Missouri: Elsevier, 2018.

GOMES, F. S., *et al*. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of applied microbiology**, 2013.

GOMES, L. J., *et al*. Pensando a Biodiversidade: Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **São Cristóvan: Editora UFS**, p.17-19, 2013.

GOMES, R. B. A., *et al.* Residues from the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolia* Raddi) processing industry: Chemical profile and antimicrobial activity of extracts against hospital bacteria. **Industrial Crops and Products**, 2020.

GÓMEZ, D., *et al*. Characterization of the Fecal Bacterial Microbiota of Healthy and Diarrheic Dairy Calves. Journal of veterinary internal medicine. 31. 10.1111/jvim.14695. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 2, p. 928–939, 2017.

GREATTI V. R., *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* da aroeira (*Schinus terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum zeylanicum*) frente a linhagens gram positivas e gram negativas. **Salusvita**, 2014.

HAILU, W., *et al*. Prevalence and Antimicrobial Resistance Profiles of Foodborne Pathogens Isolated from Dairy Cattle and Poultry Manure Amended Farms in Northeastern Ohio, the United States. **Antibiotics (Basel)**. 2021 Nov 25;10(12):1450. 2021.

HELMY, Y. A; EL-ADAWY, H; ABDELWHAB, E. M. A Comprehensive Review of Common Bacterial, Parasitic and Viral Zoonoses at the Human-Animal Interface in Egypt. **Pathogens**, 2017.

HOLSCHBACH, C. L; PEEK, S. F. *Salmonella* in dairy cattle. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**. Doi: 10.1016/j.cvfa.2017.10.005. Epub 2017 Dec 8. PMID: 29224803; PMCID: PMC7135009. Mar;34(1):133-1542017.

IGREJAS, G., *et al*. Surveying antimicrobial resistance: Approaches, issues, and challenges to overcome. **Frontiers in Microbiology**, Feb 1;8:90, 2017.

IRWIN, R. Imagining the postantibiotic future: the visual culture of a global health threat. **Medical Humanities**. 10.1136/medhum-2020-011884. 2020.

ISSENHUTH-JEANJEAN, S; *et al*. Supplement 2008–2010 (no. 48) to the white–Kauffmann–Le minor scheme. **Research in Microbiology**, 2014.

(ITIS) Integrated Taxonomic Information System - Report. Disponível em: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=531178#null. Acesso em: 02 fev. 2024.

JESSOP, E., *et al*. Neonatal Calf Diarrhea and Gastrointestinal Microbiota: Etiologic Agents and Microbiota Manipulation for Treatment and Prevention of Diarrhea. **Veterinary Sciences**, v. 11, n 3, p. 10- 33, 2024.

JIBRIL, A. H., *et al*. Association between antimicrobial usage and resistance in *Salmonella* from poultry farms in Nigeria**. BMC Veterinary Research**, 17, 234. 2021.

JUFFO, G. D., *et al*. Equine salmonellosis in southern Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, 2017.

KLEMM, E. J., *et al*. Emergence of an extensively drugresistant *Salmonella enterica* serovar Typhi clone harboring a promiscuous plasmid encoding resistance to fluoroquinolones and third-generation cephalosporins. **mBio**, 2018.

LAMICHHANE, B., *et al*. Salmonellosis: An Overview of Epidemiology, Pathogenesis, and Innovative Approaches to Mitigate the Antimicrobial Resistant Infections. **Antibiotics**, 2024.

LEAL, M. R. S., *et al*. Potencial Antimicrobiano do extrato de casca de aroeira (*Schinus terebenthifolius* Raddi). Universidade de Pernambuco-UPE/*Campus* Garanhuns. **Anais do Congresso Nacional de Biólogos**. ISSN 2446-4716, v. 8, p. 305, 2018.

LIMA GLÓRIA, L., *et al*. Phenolic compounds present *Schinus terebinthifolius* Raddi influence the lowering of blood pressure in rats. **Molecules**, v. 22, n. 10, p. 1792, 2017.

LIMA, N. T. S., *et al*. Saúde Única na perspectiva da educação popular em saúde. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 10, p. 54-73, 2020.

LINDEN, M., *et al*. Effects of structural differences on the antibacterial activity of biflavonoids from fruits of the Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Food Research International**, 2020.

LOEB, E., *et al*. Dry gangrene of the extremities in calves associated with *Salmonella* Dublin infection; a possible immune-mediated reaction. **Journal of Comparative Pathology**. 2006.

LORENZI, H; MATOS, F. J. de A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. 3. ed. Nova Odessa: Jardim Botânico Plantarium, 2021.

LOU, L., *et al*. *Salmonella* pathogenicity island. 1 (SPI-1) and its complex regulatory network. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, Jul 31;9:270. 2019.

MAIA M. do C. R., *et al*. Propriedades terapêuticas da espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-vermelha). **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 4, p. e6791, 30 abr. 2021.

MARQUES, A. L. A., *et al*. Salmonellosis outbreak by serovar Dublin in calves in Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.8, p.983-988, 2013.

MARSCHIK, T., *et al*. A cost-benefit analysis and the potential trade effects of the bovine viral diarrhoea eradication programme in Styria, Austria. **The Veterinary Journal**, 2018.

MCEWEN, S. A; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial resistance: a one health perspective. **Microbiology Spectrum**, 2018.

MELO, M. C. S. C., *et al.* Alcohol extract of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) as a local antimicrobial agent in severe autogenously fecal peritonitis in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, 2014.

METRE, D. C. V., *et al*. Infectious Diseases of the Gastrointestinal Tract. In: DIVERS, T. J.; PEEK, S. F. **Rebhun's Diseases of Dairy Cattle**. 2. ed. *St. Louis: Elsevier*. Cap. 6, p. 219-225, 249-254, 2008.

MILLEMANN, Y. Diagnosis of neonatal calf diarrhea. **Revue de Médecine Veterinaire**, Toulouse, v. 160, n. 2, p. 404-409, 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Informações Sistematizadas da Relação Nacional de Interesse ao SUS: *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae (Aroeira-da-praia). Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos – Brasília. **Ministério da Saúde**, 2021.

MOHLER, V. L., *et al*. *Salmonella* in calves. **Veterinary Clinics of North America**: Food Animal Practice, v.25, p.37-54, 2009.

MOTA, R. A., *et al*. Utilização indiscriminada de antimicrobianos e sua contribuição a multirresitência bacteriana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.42, n.6, p.465-470, 2005.

NASCIMENTO, M. S., *et al. Schinus terebinthifolius* Raddi (Brazilian pepper) leaves extract: *in vitro* and in vivo evidence of anti-inflammatory and antioxidant properties. **Inflammopharmacol** 31, 2505–2519, 2023.

NETO, L. G; LOPES N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, 374-381, 2007.

NEVES E. J. M., *et al*. Cultivo da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para produção de pimenta-rosa. **Embrapa Florestas-Documentos (INFOTECA-E)**, 2016.

NIELSEN, L. R., *et al. Salmonella* Dublin infection in dairy cattle: risk factors for becoming a carrier. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 65, p. 47–62, 2004.

OLIVEIRA, K. D. R., *et al*. As interfaces da diarreia neonatal na espécie bovina: Revisão de literatura. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.14, n.3, p. 1 –14, 2020.

OLIVEIRA, M. S., *et al*. Chemical composition and antifungal and anticancer activities of extracts and essential oils of *Schinus terebinthifolius* Raddi fruit. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2, p. 135-146, jul. 2018.

OLIVEIRA, V. S., *et al*. Aroeira fruit (*Schinus terebinthifolius* Raddi) as a natural antioxidant: chemical constituents, bioactive compounds and *in vitro* and *in vivo* antioxidant capacity**. Food chemistry**, v. 315, p. 126274, 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). The importance of Pharmacovigilance: safety monitoring of medicinal products. Genebra: OMS, 2002.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). *Salmonella* (não tifóide). Disponível online: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal). Acesso em: 12 dez, 2023.

PACHECO, E. B. A., *et al*. *In vitro* antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Schinus terebinthifolia* (red pepper) and *Cymbopogon nardus* (citronella) against *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. **Brazilian Journal of Health Review**, *[S. l.]*, v. 5, n. 6, p. 24872–24888, 2022.

PAIVA, A. M. S; ALOUFA, M. A. I. Estabelecimento *in vitro* de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius* Raddi) em diferentes concentrações de 6-benzilaminopurina (BAP). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.11, n.3, p.300-4, 2009.

PAIXÃO, T. A; PINTO, J. P. A; SANTOS, R. L. Enfermidades pelo gênero *Salmonella*. In: MEGID, J; RIBEIRO, M. G; PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. 1. ed. Rio de Janiero: Roca. Cap. 45, p. 478-493, 2016.

PAPP H., *et al.* Review of group A rotavirus strains reported in swine and cattle. **Veterinary Microbioly**, Aug 30;165(3-4):190-9, 2013.

PECORARO, H. L., *et al*. Histopathology case definition of naturally acquired *Salmonella enterica* serovar Dublin infection in young Holstein cattle in the northeastern United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.29, n.6, p.860–864, 2017.

PEEK, S. F., *et al*. Isolation of *Salmonella* spp from the environment of dairies without any history of clinical salmonellosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.225, n.4, p.574- 577, 2004.

PELA, J. J. Caracterização agronômica da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no município de São Mateus, no estado do Espírito Santo. **Tese** (Doutorado – Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2014.

PEREIRA, E. M., *et al*. *In vitro* antimicrobial activity of Brazilian medicinal plant extracts against pathogenic microorganisms of interest to dentistry. **Planta Medica-Natural Products and Medicinal Plant Research**, 2011.

PINTO, E. P. P., *et al*. Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica – Itacaré, BA, Brasil. **Acta Botânica Brasileira,** v. 20, n. 4, p. 751-62, 2006.

PONTES, D. S., *et al*. Genetic mechanisms of antibiotic resistance and the role of antibiotic adjuvants. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, 2018.

PORWOLLIK, S., *et al*. Differences in gene content between *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolates and comparison to closely related serovars Gallinarum and Dublin. **J. Bacteriol**, 2005.

PUBCHEM. *(*Miricetina, miricetrina e quercitrina). Disponível online: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/. Acesso em: 27 dez, 2023.

RADOSTIS, O. T., *et al.* Veterinary Medicine: a textbook of disease of cattle, horses, sheep, pigs and goats, 10th edition, Philadelphia: **Saunders Elsevier**, p. 173 – 187, 2007.

RADOSTITS, M. O., *et al*. Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goast. 10. ed. **St. Louis: Elsevier**, 2007.

RIBEIRO FILHO., *et al*. Hidratação em ruminantes adultos e neonatos: Abordagem prática e objetiva. **Revista Brasileira de Buiatria - Clínica Médica**, v. 1, n.1, p.4, 2021.

RIBEIRO, A. C. S. Salmonelose bovina e sua importância para a saúde pública. 76 f. Trabalho de Conclusão de Curso (**Residência**) - Programa de Residência em Área Profissional da Saúde - Medicina Veterinária, Sanidade de Ruminantes, Clínica de Bovinos, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, 2017.

RICHTER, V., *et al*. A systematic worldwide review of the direct monetary losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection. **The Veterinary Journal**. 2017.

ROCHA, P. S., *et al.* Diversity, chemical constituents and biological activities of endophytic fungi isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Microorganisms**, 2020.

RODRIGUES, G. C. N. Diarreia em bezerras leiteiras: revisão bibliográfica. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal – SP, 2021.

ROSAS, E. C., *et al*. "Antiinflammatory Properties of Schinus terebinthifolius and Its Use in Arthritic Conditions." ***Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases***, 2019.

RORATO, D. G., *et al.* Tolerance and resilience of forest species to frost in restoration planting in southern Brazil. **Restoration Ecology**, 2018.

SALES, M. D. C., *et al.* Plantas Medicinais e Aromáticas do Espírito Santo: O óleo essencial de folhas e frutos da espécie *Schinus terebinthifolia* Raddi (Aroeira Vermelha). In: SANTOS, C. C. **Pesquisa na cadeia de suprimentos de Plantas Aromáticas**. Ponta Grossa: Atena Editora, 2019.

SALVI JÚNIOR, A. *Schinus terebinthifolius* Raddi: Estudo Anatômico e Histoquímico das folhas e investigação do potencial farmacêutico do extrato etanólico e suas frações. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara. 15p, 2009.

SANTANA, J. S., *et al*. Essential oils from *Schinus terebinthifolius* leaves – chemical composition and *in vitro* cytotoxicity evaluation. v. 50, n. 10, p. 1248-1253, **Pharmaceutical Biology**, 2012.

SANTANA, J. S., *et al.* Isolamento e avaliação do potencial citotóxico de derivados fenólicos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 15, n. 11, p. 2245-2248, 2012.

SANTOS, A. C. A., *et al*. Chemical Composition of the Essential Oils from Leaves and Fruits of *Schinus mole* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi from Southern Brazil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 2009.

SANTOS, C. T. C., *et al*. Comparação da atividade entre óleos essenciais de frutos verdes e maduros de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre isolados de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes. **Diversitas Journal**, 2019.

SANTOS, I. T. B. F., *et al*. Óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi como controle alternativo de *Colletrotrichum gloeosporioides* e *Lasiodiplodia theobromae*, 59 fungos fitopatogênicos de pós-colheita. **GEINTEC**, São Cristovão, v. 4, n. 4, p. 1409- 1417, 2014.

SANTOS, O. J. D., *et al.* Efeito de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) e *Carapa Guianensis* Aublet (andiroba) na cicatrização de gastrorrafias. ABCD. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, 2013.

SANTOS, R. L., *et al*. Hematologic and serum biochemical changes in *Salmonella* ser Typhimurium-infected calves. **American Journal of Veterinary Research**. 2002.

SARAF, S., *et al*. Multidrug-Resistant Nontyphoidal *Salmonella* Associated with Invasive Disease in an Immunocompetent Child. **Indian Journal of Pediatrics**, 2021.

SEQUEDA-CASTAÑEDA, L. G. *et al*. Bioassay-guided fractionation in *Anacardium excelsum* (Bert. & Balb. Ex Kunth) Skeels (Anacardiaceae). **Pharmacologyonline**, 2021.

Silva, E. B., *et al*. Principais enfermidades que acometem bezerros neonatos. **Research, Society and Development**, v. 8, n. 8, p. 1-12, 2019.

SILVA, G. B. P. G., *et al*. Antimicrobial activity of Phoma sp. URM 7221: An endophyte from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **African Journal of Microbiology Research**, 2017.

SILVA, J. H. S., *et al*. Anti-*Escherichia coli* activity of extracts from *Schinus terebinthifolius* fruits and leaves. **Natural Product Research**, [S.I.], v. 32, n. 11, p. 1365-1368, 2018.

SILVA, L. E., *et al*. *Salmonella* enterica infection in pigs reared in an integrated production system in southern Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.455-461, 2006.

SILVA, M. M., *et al*. *Schinus terebinthifolius*: phenolic constituents and *in vitro* antioxidant, antiproliferative and *in vivo* anti-inflammatory activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2017.

SILVA, M. O.; AQUINO, S. Resistência aos antimicrobianos: uma revisão dos desafios na busca por novas alternativas de tratamento. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 8, n. 4, p. 472– 482, 2018.

SILVA, N. C. S., *et al*. Tudo que é natural não faz mal? Investigação sobre o uso de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos por idosos, na cidade de Iapu-leste de Minas Gerais. **Cadernos Acadêmicos**, 2016.

SILVA., *et al*. Avaliação antimicrobiana de extratos etanólicos de aroeira, cajueiro-roxo, sambacaitá e unha-de-gato. I Congresso de Iniciação Científica da UFAPE. **Anais de congresso,** v.1, p.106, 2021.

SILVA., *et al*. Identificação dos metabólitos secundários do extrato etanólico das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **South American Journal of Basic Education**, v. 2, n. 2, p. 84-93, 2015.

SILVA-NETO R., *et al. Schinus terebinthifolius* Raddi*:* propriedades antimicrobiana, antiinflamatória e cicatrizante. **Mostra Científica da Farmácia**, 2018.

SOUSA, D. S., *et al.* Análise prospectiva científica e tecnológica sobre *Myracrodruon urundeuva* (aroeira do sertão) e a resistência bacteriana. **Research Society and Development**, v. 10, n. 11, p. 1-12, 2021.

STROCKBINE, N. A., *et al*. *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. In: Jorgensen JH, Pfaller MA (EE.). Manual of clinical microbiology. 11° ed. **Washington: ASM Press**; 2015.

TEIXEIRA, A. R., FIGUEIREDO, A. F. C., & FRANÇA, R. F. Resistência bacteriana relacionada ao uso indiscriminado de antibióticos. **Revista Saúde em Foco**, v. 11, n. 5, p. 853–875, 2019.

TLILI, N., *et al*. *Schinus terebinthifolius* vs *Schinus molle*: A comparative study of the effects of species and location on the phytochemical content of fruits. **Industrial Crops & Products**, [S.I.], v. 122, p. 559-565, 2018.

TOWNSEND, S. M., *et al*. *Salmonella enterica* serovar Typhi possesses a unique repertoire of fimbrial gene sequences. **Infection and Immunity Journal**, 2001.

ULIANA, M. P., *et al.* Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. **Industrial Crops and Products**, 2016.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (2012). **Catálogo da Flora Campus USP Leste**, 2012.

URBANEJA, M. E; URBANEJA, M. E. Implicações da resistência bacteriana porStaphylococcusspp.na medicina veterinária: Revisão. **Pubvet**, v. 18, n. 5, p. 1-9, 2024.

URIE, N. J., *et al*. Preweaned heifer management on US dairy operations: Part V. Factors associated with morbidity and mortality in preweaned dairy heifer calves, **Journal of Dairy Science**, Volume 101, Issue 10, 2018.

UZAL, F. A., *et al*. Alimentary System. In: M. G Maxie. Pathology of Domestic Animals, Jubb, Kennedy & Palmer´s. 6.ed. St. Louis, **Missouri: Elsevier**, 2, 117-176, 2016.

VARGAS J; SERGIO F. Diarreia em bezerros na região sul do Rio Grande do Sul. 42 f. **Dissertação** (Mestrado). Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Pelotas – RS, 2015.

VIEIRA, D. R. P., *et al.* Plant species used in dental diseases: ethnopharmacology aspects and antimicrobial activity evaluation. **Journal of Ethnopharmacology**, 2014.

VIEIRA, F. S; GOMES, R. S. Diarreia em bezerros: etiologia, tratamento e fatores imunológicos. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Curitiba, v.4, n.4, p. 5061-5102, 2021.

VIEIRA, M, A. Ilhas de patogenicidade. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v.33, n.4, p.406-414, 2009.

VIZZOTTO, M., *et al.* Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua Importância. **Embrapa Clima Temperado**, 2010.

WINDEYER, M. C., *et al*. Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. **Preventive Veterinary Medicine**, 2014.

WRAY, C; DAVIES, R. H. *Salmonella* infections in cattle. In: Wray C, Wray A (EE.). *Salmonella* in domestic animals. **Wallingford: CABI Publishing**, 2000.

ZHA, L; GARRETT, S; SUN, J. *Salmonella* Infection in Chronic Inflammation and Gastrointestinal Cancer. **Diseases**, Mar 10;7(1):28. 2019.

# 4 CAPÍTULO II – PRODUÇÃO CIENTÍFICA

## 4.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ESTUDO FITOQUÍMICO BIOGUIADO DE EXTRATOS DE *Schinus terebinthifolius*

ALCHAAR, M. R.; SILVA, B. H. S.; ESPINDOLA, M. T. A.; SILVA, E. F. T.; MOREIRA, K. A.; AQUINO, P. G. V. Antimicrobial activity and bioguided phytochemical study of extracts from *Schinus terebinthifolius* Raddi. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2024. Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE), Avenida Bom Pastor, s/n.º - Boa Vista - Garanhuns/PE CEP: 55292-270, Brazil. E-mail: matheusreboar@gmail.com

# Atividade antimicrobiana e estudo fitoquímico bioguiado de extratos de *Schinus terebinthifolius*

Matheus Rebouças Alchaar[1], Bruno Henrique dos Santos Silva[1], Maria Tamires Alves Espindola[2], Edson Flavio Teixeira da Silva[3], Keila Aparecida Moreira[1] e Pedro Gregório Vieira Aquino[1]

Registro ORCID:
https://orcid.org/0000-0003-3007-1224
https://orcid.org/0000-0001-7960-199X
https://orcid.org/0000-0003-4532-1126
https://orcid.org/0000-0003-4122-8514
https://orcid.org/0000-0002-7715-9285
https://orcid.org/0000-0001-8826-1683

[1] Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, Avenida Bom Pastor, s/n.º, Boa Vista, Garanhuns, Pernambuco, Brasil, CEP: 55292-270. E-mail: matheusareboar@gmail.com.br, bruno.henriquesilva@ufape.edu.br, keila.moreira@ufape.edu.br, pedro.aquino@ufape.edu.br
[2] Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/ n.º, Dois Irmãos, Recife, Pernambuco, Brasil. CEP: 52171-900. E-mail: matamiresespindola@gmail.com
[3] Vetscience Diagnóstico Veterinário, Rua Padre Antonio Tomaz, 142, Maurício de Nassau, Caruaru, Pernambuco, Brasil. CEP: 55012-630. E-mail: edsonflavios@outlook.com

**Resumo -** Este estudo visou identificar classes de metabólitos secundários por métodos colorimétricos e avaliar o potencial antimicrobiano do extrato etanólico e suas frações das folhas de aroeira (*Schinus terebenthifolius* Raddi) contra bactérias causadoras de enterites em bovinos. O processo de caracterização das frações envolveu fracionamento cromatográfico em sílica gel e Sephadex LH-20, seguido de prospecção fitoquímica, bioguiados pelos resultados biológicos contra espécies de *Salmonella*. Em relação à *Salmonella* Dublin, observou-se atividade antimicrobiana significativa, com a fração de acetato de etila e suas subfrações A2 e B2 apresentando os menores valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM), destacando-se 0,046 mg/mL em comparação com a subfração C1, que registrou 0,75 mg/mL. Por outro lado, nenhum dos níveis de concentração testados inibiu o crescimento de *Salmonella* Typhimurium. Os resultados preliminares revelou a presença de antronas, glicosídeos cardiotônicos, alcaloides, flavonoides, terpenos e cumarina. A descoberta exclusiva de antronas neste estudo sugere uma nova contribuição para a composição química da planta. Compostos como fenóis, flavonoides e terpenos identificados são reconhecidos por suas propriedades antimicrobianas, possivelmente responsáveis pela eficácia observada. Este estudo pioneiro amplia o conhecimento sobre o potencial antimicrobiano da aroeira, indicando sua promissora aplicação na medicina veterinária e abrindo perspectivas para o desenvolvimento de novos medicamentos.

**Termos para indexação:** Aroeira-vermelha, Anacardiaceae, plantas medicinais, triagem fitoquímica, antimicrobiano, *Salmonella*.

**Antimicrobial activity and bioguided phytochemical study of extracts from *Schinus terebinthifolius* Raddi**

**Abstract** - This study aimed to identify classes of secondary metabolites using colorimetric methods and to evaluate the antimicrobial potential of the ethanolic extract and its fractions from the leaves of Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) against bacteria causing enteritis in cattle. The characterization process of the fractions involved chromatographic fractionation on silica gel and Sephadex LH-20, followed by phytochemical prospecting, guided by biological results against *Salmonella* species. Significant antimicrobial activity was observed against *Salmonella* Dublin, with the ethyl acetate fraction and its subfractions A2 and B2 presenting the lowest Minimum Inhibitory Concentration (MIC) values, standing out at 0,046 mg/mL compared to subfraction C1, which recorded 0,75 mg/mL. On the other hand, none of the tested concentration levels inhibited the growth of *Salmonella* Typhimurium. Preliminary results revealed the presence of anthrones, cardiac glycosides, alkaloids, flavonoids, terpenes, and coumarin. The exclusive discovery of anthrones in this study suggests a new contribution to the chemical composition of the plant. Compounds such as phenols, flavonoids, and terpenes identified are recognized for their antimicrobial properties, possibly responsible for the observed efficacy. This pioneering study expands the knowledge of the antimicrobial potential of Brazilian peppertree, indicating its promising application in veterinary medicine and opening up new perspectives for the development of novel drugs.

**Indexing terms:** Brazilian peppertree, Anacardiaceae, medicinal plants, phytochemical screening, antimicrobial, *Salmonella*.

## INTRODUÇÃO

As plantas foram a principal fonte de medicamentos para a humanidade e suas propriedades terapêuticas estão associadas a uma variedade de compostos secundários e relatados (Sousa *et al*., 2021). Nos últimos anos, o interesse em explorar extratos vegetais e seus compostos medicinais vem ganhando espaço na busca por fontes potenciais de novos antimicrobianos, especialmente devido ao aumento da resistência microbiana aos antibióticos (Chassagne *et al*., 2021).

A utilização de plantas fitoterápicas tem crescido em todo o mundo, inclusive no Brasil, conforme evidenciado pela literatura que mostra um aumento substancial na produção e consumo de fitoterápicos (Sousa *et al*., 2021). Segundo (Haruna; Yahaya, 2021), a pesquisa de novas moléculas é o objetivo central das indústrias farmacêuticas e dos grandes centros de pesquisa, sendo mais viável explorar as moléculas naturais do que criar novos fármacos aleatoriamente.

Uma das plantas de interesse medicinal é a espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi (família Anacardiaceae), conhecida popularmente como “aroeira”, “aroeira-vermelha”, “pimenta brasileira” ou “pimenta rosa”. É uma árvore perenifólia popular e amplamente

distribuída no território brasileiro, sendo predominando na região da Mata Atlântica (Tlili *et al*., 2018).

A inclusão de *S. terebinthifolius* na Farmacopeia Brasileira ressalta sua importância na medicina. Estudos têm demonstrado várias atividades biológicas da aroeira através de suas cascas, frutos e folhas, com ação antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, antioxidante e anti-histamínica (Uliana *et al*., 2016; Gomes *et al.,* 2020). Essas propriedades fazem dela uma planta de grande interesse para a pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos.

As folhas da aroeira-vermelha contêm uma variedade de compostos químicos com atividade antibacteriana comprovada contra um ampla gama de bactérias, como *Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, Bacillus subtilis, Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* Typhimurium e patógenos humanos dos gêneros *Aspergillus, Bacillus*, *Pseudomonas* e *Shigella,* incluindo a lectina SteLL e óleos essenciais, a partir de extratos etanólicos e metanólicos (El-Massry *et al*., 2009; Santana *et al*., 2012; Gomes *et al*., 2013; Silva *et al*., 2021).

A aroeira possui uma importância significativa na medicina popular, sendo empregada tradicionalmente no tratamento de diversas condições de saúde, como inflamações, infecções e problemas digestivos. Nos últimos anos, houve um aumento de pesquisas que buscam validar suas propriedades medicinais, demonstrando efeitos positivos na sua ação antimicrobiana (Gomes *et al.,* 2020). Diante disso, esse trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato etanólico e suas frações, derivadas das folhas de *S. terebinthifolius,* contra espécies bacterianas patogênicas para ruminantes, incluindo *Salmonella* Dublin ATCC 15480 e S*almonella* Typhimurium ATCC 14028. Essa pesquisa é fundamental para compreender e identificar o pontencial terapêutico da aroeira no controle de infecções bacterianas em animais de interesse pecuário.

O objetivo deste trabalho foi identificar classes de metabólitos secundários através de métodos colorimétricos e avaliar o potencial antimicrobiano do extrato etanólico e frações das folhas de aroeira (*Schinus terebenthifolius* Raddi) frente às bactérias causadoras de enterites em bovinos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As folhas de aroeira foram coletadas em junho de 2022, de uma planta localizada no *campus* da UFAPE, na cidade de Garanhuns, estado de Pernambuco, Brasil (coordenadas geográficas: 8°54'27.2"S 36°29'39.2"W). A espécie vegetal foi identificada como *Schinus*

*terebinthifolius* Raddi, por Maria Olivia de Oliveira Cano e a exsicata está depositada no Herbário do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), Recife, Brasil, sob o número de registro 93.541. A atividade de acesso foi cadastrada no SisGen sob registro A6BB918.

O material foi cuidadosamente coletado observando integridade e ausência de possíveis elementos como fungos, com a separação de todas as folhas dos seus caules. Foram devidamente pesadas, identificadas (data e peso) e secas em estufa de secagem com circulação de ar a 50 ºC. Após a secagem, as folhas foram trituradas com auxílio de uma peneira para análise granulométrica (abertura 6,30 mm), pesadas e armazenadas em Erlenmeyers de 1000 mL secos e limpos.

O procedimento extrativo foi realizado segundo a metodologia Miranda e Rocha (2022), com adaptações. As folhas de *Schinus terebenthifolius* Raddi previamente trituradas foram submetidas a extração, pelo processo de maceração, empregando álcool etílico a 70 % na proporção 1:3 (g:mL), por 72 horas. Após esse período, a solução extrativa foi filtrada. Este procedimento foi replicado por três vezes consecutivas. As três soluções extrativas foram combinadas e concentradas sob pressão reduzida à temperatura de 40 ºC em aparelho rotavapor para obtenção de 150 mL extrato etanólico bruto (EEB). O material concentrado foi congelado e posteriormente liofilizado para remoção da água. Calculou-se o rendimento total do extrato, de acordo com a fórmula: Re = (Pext /Pfolhas) x 100. Onde: Re = Rendimento total de extrato; Pext = Peso do extrato seco (g); Pfolhas = Peso das folhas secas (g).

O EEB foi submetido à técnica de fracionamento bioguiado a qual consiste na separação dos compostos químicos de acordo com a atividade biológica apresentada. Os fracionamentos seguiram a lógica de separação dos constituintes presentes no material que apresente melhor perfil de atividade antimicrobiana. A primeira separação foi realizada por meio da técnica de partição líquido-líquido e as demais por meio da técnica de cromatografia em coluna.

Para realização da extração líquido-líquido com solventes de polaridade crescente, foram pesados 48 g do EEB seco, e solubilizado em 200 mL de solução Metanol:Água (3:2), filtrado e transferido para um funil de separação. Em seguida, foi colocado hexano (3 x 200 mL), a mistura agitada e a fase hexânica foi extraída três vezes com igual volume desse solvente e removido sob pressão reduzida a 40 ºC em aparelho rotavapor, até obter a fração solúvel em hexano (FHex).

Posteriormente, adicionou-se acetato/ de etila (3 x 200 mL) ao funil de separação onde estava contido o remanescente da partição em hexano, foi submetida a uma nova extração, seguindo o mesmo procedimento anterior. Em seguida, o solvente foi rotoevaporado, obtendo-se a fração solúvel em acetato de etila (FAcOEt).

A partição água foi a última a ser obtida, onde ressuspendido em água, foi rotaevaporado até obter à pressão reduzida no banho a 40 ºC, para eliminação de quaisquer resíduos de solvente para obtenção da fração aquosa (FAq). As três frações alcançadas foram liofilizadas para terem a massa do rendimento individual em gramas.

As cepas de bactérias utilizadas para a avaliação da atividade antimicrobiana foram selecionadas levando-se em consideração microrganismos relacionados à sanidade de ruminantes, causadoras de enterites nas espécies: *Salmonella* Dublin ATCC 15480 e S*almonella* Typhimurium ATCC 14028. Para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada pelo método de microdiluição de acordo com a metodologia proposta pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008; CLSI, 2012) com modificações. Os testes foram feitos em placas estéreis de 96 poços de fundo plano (Test Plate 96 F 92096 / TPP®), pelo processo de inibição de crescimento bacteriano, através da turbidez em microplaca. Para os ensaios, foram utilizados 200 µL (solução mãe) do EEB, suas frações e subfrações, a partir *S. terebinthifolius*, em oito diluições seriadas com fator 2 (1,5 a 0,011 mg/mL), solubilizados em solução de DMSO 10% e água destilada na proporção de 1:9 para o controle e ensaio. Posteriormente, foram acrescentados 90 µL de caldo Mueller-Hinton (CMH) em todos os poços utilizados, 10 µL de água destilado no grupo controle e 10 µL de suspensão bacteriana, previamente padronizadas a concentração de 0,1 de densidade óptica a 600 nm ($DO_{600}$) em espectrofotômetro. Para o controle positivo foi utilizado 100 µL do antimicrobiano cloranfenicol na concentração de 4 mg/mL, 90 µL de CMH e 10 µL do inóculo bacteriano. O controle negativo foi composto por 100 µL do diluente contendo 10% de DMSO + 90% de água destilada, 90 µL de CMH e 10 µL do inóculo bacteriano, testado sob as mesmas condições experimentais. As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica (Nova Técnica®, modelo NT 523) a 36 °C por 24 horas. A densidade óptica a $DO_{600}$ foi medida inicialmente (tempo zero), e, em seguida, o ensaio foi incubado a 37 °C por mais 24 horas. Após o período de incubação, a $DO_{600}$ foi medida novamente. O aumento na $DO_{600}$ em comparação com o tempo zero foi considerado como crescimento bacteriano. Os resultados foram avaliados em leitora de Elisa na densidade já mencionada. Assim, a concentração mínima inibitória (CIM) foi determinada como a menor concentração de extrato/fração capaz de promover uma redução da $DO_{600}$ sendo considerada como a menor concentração do extrato vegetal capaz de inibir o crescimento em ≥ 90% das cepas. Todos os testes foram conduzidos em triplicata (Hörner *et al*., 2008; Rozatto, 2012).

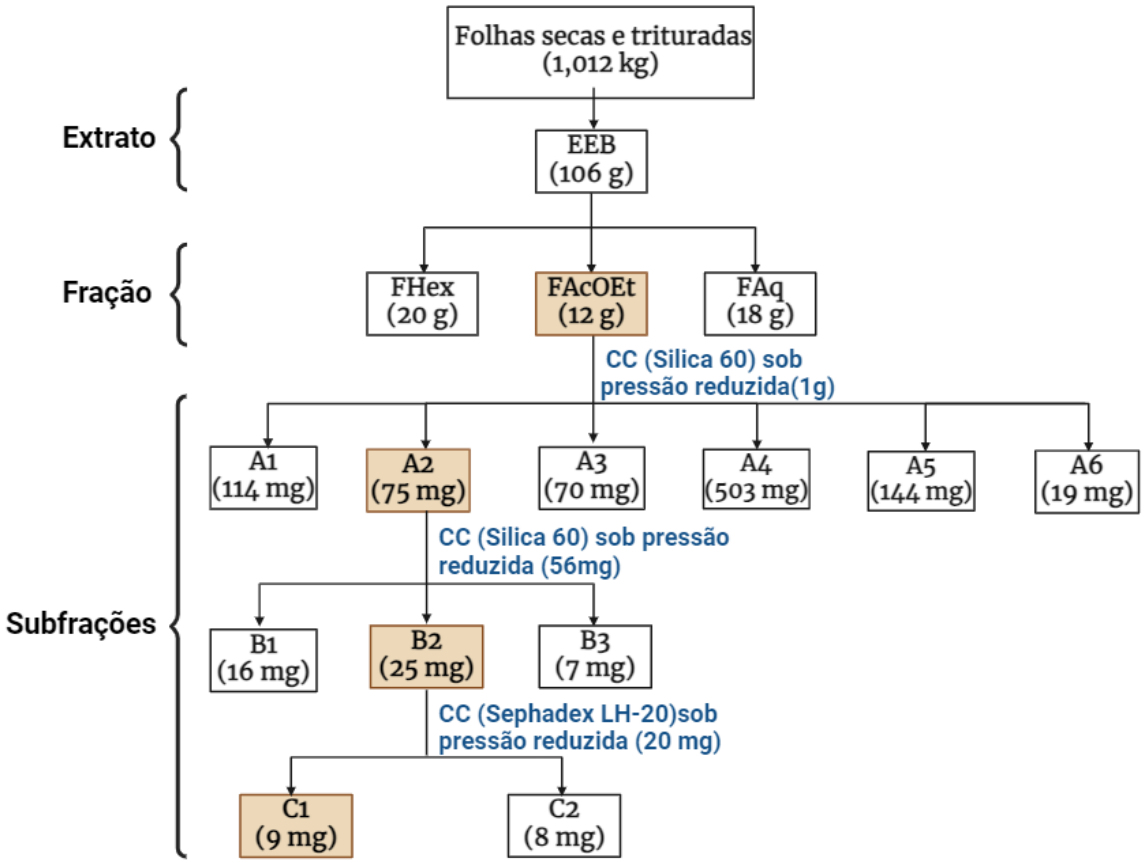
Neste trabalho, foram realizadas algumas técnicas cromatográficas, como a Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Utilizaram-se cromatoplacas pré-fabricadas de

alumínio com sílica gel (TLC sílica-gel 60 F254), revestidas com indicador fluorescente F254 e 0,2 mm de espessura (Merck®), que foram cortadas em medidas de 5 cm de comprimento. As amostras foram aplicadas a 0,5 cm da borda inferior e das bordas laterais das placas. Após o desenvolvimento da cromatografia, foram utilizados reveladores químicos e físicos (Sabudak *et al*., 2005).

Nesse caso, as placas de sílica estavam pré-impregnadas com material fluorescente e foram reveladas sob lâmpada de ultravioleta (UV) nos comprimentos de onda de 254 e 332 nm (método físico). Após a avaliação por CCD, a fração orgânica foi fracionada por Cromatografia em Coluna (CC) para purificação, e as subfrações obtidas foram acompanhadas por CCD conforme o protocolo descrito anteriormente. Para a montagem das colunas cromatográficas, utilizou-se sílica gel 60 (0,063-0,200 mm, 70-230 Mesh) e Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich). As frações foram coletadas em tubos de ensaio, e aquelas que apresentaram perfis semelhantes na análise por CCD foram agrupadas.

Desta forma, a primeira fração de AcOEt foi submetida a fracionamento cromatográfico em sílica gel 60 eluído em misturas de Hex:AcOEt em polaridade crescente. Foram obtidos 12 frações que, após análise conjunta por CCD, foram reunidas em 6 grupos (A1 - A6). A fração bioativa A2, foi submetida a fracionamento cromatográfico em sílica gel 60 eluído em misturas de Hex:AcOEt, fornecendo 13 frações que, após análise por CCD, foram reunidas em 3 grupos (B1 – B3). A terceira subfração bioativa B2, foi submetido à separação em gel de Sephadex LH-20 eluído com MeOH:CHCl3, fornecendo 13 frações que, após monitoramento por CCD, foram reunidas em 3 grupos (C1 – C3), sendo a C1 a bioativa. Desse processo, as frações mais bioativas foram submetidas a uma prospecção para caracterizar grupos químicos. No total, dos 106 g de EEB seco disponíveisforam utilizados 48 g para o processo de fracionamento, que resultou nas frações: 20 g de fração hexânica (FHex), 12 g de fração acetato de etila (FAcOEt) e 18 g de fração aquosa (FAq). A (Figura 1) ilustra esse processo e os resultados obtidos.

**Figura 1** - Fracionamento por cromatografia em coluna de acordo com atividade biológica




Fonte: autoria própria.

Para análise das classes de compostos presentes na fração do extrato e subfrações, estes foram solubilizados em metanol com concentração 1 mg/mL e aplicadas em cromatoplacas sílica gel (TLC sílica-gel 60 F254), para o método de CCD comparativa. Foram utilizados 3 sistemas de fases móvel para desenvolvimento das placas. A fase móvel 1 - hexano: acetato de etila (6:4) - utilizada para a FAcOEt e A2; a fase móvel 2 - metanol: clorofórmio, na proporção (1:9) utilizada para a B2. A fase móvel 3 hexano:clorofórmio (6:4) utilizada para a C1.

As placas foram reveladas com uma solução de hidróxido de potássio com etanol (KOH:EtOH) na proporção de 1:1 para a identificação das classes de compostos presentes em cada fração e subfração. Todos os reveladores foram preparados seguindo a metodologia proposta por (Wagner; Bladt, 1996). Na Tabela 1 estão descritos os sistemas cromatográficos utilizados.

**Tabela 1** - Sistemas cromatográficos empregados para obtenção do perfil fitoquímico da fração e subfrações *Schinus terebinthifolius* Raddi

| Classe de compostos | Fase móvel | Revelador | Observação | Coloração |
|---|---|---|---|---|
| Antroquinonas | 1, 2 e 3 | KOH:EtOH (1:1) | UV (365 nm) | Vermelha |
| Antronas | 1, 2 e 3 | KOH:EtOH (1:1) | UV (365 nm) | Amarela |
| Cumarinas | 1, 2 e 3 | KOH:EtOH (1:1) | UV (365 nm) | Azul |
| Glicosídeos cardiotônicos | 1, 2 e 3 | KOH:EtOH (1:1) | UV (254 nm) | Rosa ou violeta no visível |
| Alcaloides | 1, 2 e 3 | KOH:EtOH (1:1) | UV (254 nm) | Vermelho-marrom |
| Flavonoides | 1, 2 e 3 | KOH:EtOH (1:1) | UV (254 nm) | Amarela, laranja e verde fluorescente |
| Terpenos | 1, 2 e 3 | KOH:EtOH (1:1) | UV (254 nm) | Azul, vermelho ou marrom no visível |

Fonte: Autoria própria.

A análise estatística foi realizada pelos softwares Sisvar (Ferreira, 2019), utilizando como variável resposta a atividade antimicrobiana (CIM), para indicar os efeitos estatisticamente significativos ao Teste de Tukey ($p<0,05$). Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade antibacteriana de extratos de plantas medicinais é avaliada por métodos que utilizam uma pequena quantidade da substância para inibir o microrganismo testado, por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Esse método utilizado é a microdiluição seriada em microplacas, é um método econômico, tem reprodutibilidade, é cerca de 30 vezes mais sensível que outros métodos citados na literatura, requerem pequena quantidade de amostra, pode ser usado para grande número de amostras e proporciona registro permanente (Ostrosky *et al*., 2008).

Os resultados referentes ao CIM dos extratos das folhas de *Schinus terebinthifolius* frente estão descritos nas tabelas 2 e 3. Na avaliação da atividade antibacteriana da fração e suas frações derivadas das folhas de *S. terebinthifolius*, contra a bactéria *S.* Dublin ATCC 15480 foi ativa, inibindo o crescimento em ≥ 90% das cepas, observando-se que a fração de AcOEt, e suas subtrações A2, B2 apresentaram os menores valores de CIM na concentração de 0,046 mg/mL em relação à subfração C1 na concentração de 0,75 mg/mL (Tabelas 2 e 3). Foi observado que para a bactéria *S.* Typhimurium ATCC 14028 nenhuma das concentrações das

amostras utilizadas inibiu seu crescimento microbiano, portanto não foi incluída na análise estatística.

Estudos prévios demonstraram que extratos de plantas são considerados muito ativos se apresentarem valores de CIM < 0,1 mg/mL, significativamente ativos se 0,1 ≤ CIM ≤ 0,5 mg/mL, moderadamente ativo se 0,5 < CIM ≤ 2 mg/mL e não ativo se CIM > 2 mg/mL (Tamokou *et al.*, 2017). Seguindo este critério, AcOEt, A2, B2 analisados neste estudo foram classificados como altamente ativos, enquanto C1 foi considerado moderadamente ativo.

**Tabela 2 -** Análise de variância das diferentes frações e concentrações de extratos vegetais

| **Fonte de variação** | **Grau de liberdade** | **Soma dos quadrados** | **Média dos quadrados** | ***Fcal*** | ***Pr>Pc*** |
|---|---|---|---|---|---|
| Fração | 3 | 21648,2337 | 7216,0779 | 587,103 | 0,0000* |
| Concentração | 7 | 61190,1329 | 9445,73329 | 769,322 | 0,0000* |
| Fração x Concentração | 21 | 37667,5495 | 1793,6928 | 145,936 | 0,0000* |
| Erro 1 | 42 | 516,2216 | 12,2909 | | |
| Erro 2 | 22 | 280,4916 | 12,7496 | | |
| Total Corrigido | 95 | 126302,6295 | | | |
| CV 1 (%) = 5,11 | | | CV 2 (%) = 5,21 | | |

*Estatisticamente diferente ao Teste de Tukey ($p<0,05$).

As análises de variância indicam que tanto as diferentes frações quanto as concentrações dos extratos vegetais têm um impacto estatisticamente significativo na atividade antimicrobiana contra a bactéria testada. A interação significativa entre frações e concentrações sugere que a eficácia dos extratos depende tanto do tipo de fração quanto da concentração usada. A baixa variação residual (CV baixo) reforça a confiabilidade dos resultados obtidos. Essa análise elucidou os resultados para as diferentes frações e concentrações dos seus extratos vegetais, onde as fontes de variação (fração e concentração), de forma isolada e combinada, foram significativas no Teste de Tukey ($p<0,05$). Por ordem decrescente de significância, observa-se: FB2 > FA2 > FAcOEt > FC1, com médias de 89,4; 74,5; 61,3 e 49,1, respectivamente.

**Tabela 3** - Percentual de inibição do crescimento de *Salmonella* Dublin frente à ação de diferentes extratos oriundos de *Schinus terebinthifolius* Raddi

| Concentração do extrato (mg/mL) | Extrato vegetal | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **FAcOEt** | **FA2** | **FB2** | **FC1** |
| 1,5 | $81,6\pm4,6^{Bb}$ | $100,0\pm0,0^{Aa}$ | $98,9\pm1,2^{Aa}$ | $100,0\pm0,0^{Aa}$ |
| 0,75 | $47,7\pm8,1^{Bc}$ | $98,7\pm0,8^{Aa}$ | $98,6\pm1,4^{Aa}$ | $100,0\pm0,0^{Aa*}$ |
| 0,375 | $89,4\pm1,1^{Ba}$ | $99,5\pm0,5^{Aa}$ | $96,3\pm1,5^{Aba}$ | $54,2\pm1,7^{Cb}$ |
| 0,187 | $90,6\pm2,6^{Ba}$ | $99,4\pm0,6^{Aa}$ | $92,4\pm0,0^{Aba}$ | $28,9\pm2,4^{Cd}$ |
| 0,093 | $91,1\pm0,4^{Ba}$ | $100,0\pm0,0^{Aa}$ | $93,6\pm0,6^{Aba}$ | $40,0\pm2,5^{Cc}$ |
| 0,046 | $95,2\pm0,1^{Aa*}$ | $99,4\pm0,6^{Aa*}$ | $91,8\pm0,3^{Aa*}$ | $26,1\pm1,6^{Bde}$ |
| 0,026 | $0,0\pm0,0^{Cd}$ | $0,0\pm0,0^{Cb}$ | $84,6\pm5,5^{Ab}$ | $26,9\pm3,1^{Bde}$ |
| 0,011 | $0,0\pm0,0^{Cd}$ | $0,0\pm0,0^{Cb}$ | $58,9\pm1,3^{Ac}$ | $19,9\pm1,3^{Bde}$ |

**FAcOEt**: Refere-se à fração de acetato de etila do extrato. **FA2, FB2, FC1**: São as subfrações específicas dentro da fração de acetato de etila. Letras maiúsculas (linha) e minúsculas (coluna) iguais não diferem estatisticamente ao Teste de Tukey ($p<0,05$). Os asteriscos (*) indicam as concentrações inibitórias mínimas (CIM) de cada fração.

A análise fitoquímica por CCD das frações demonstrou a presença de alguns grupos de substâncias derivadas do metabolismo secundário, em especial: antronas, cumarinas, glicosídeos cardiotônicos, alcaloides, flavonoides e terpenos. As composições do teste variam em relação às frações usadas. Os resultados obtidos estão demonstrados na tabela 4.

**Tabela 4 -** Análise fitoquímica da fração e suas subfrações bioativas de *Schinus terebinthifolius*

| **Teste fitoquímico** | **Fração AcOEt** | **Subfração A2** | **Subração B2** | **Subfração C1** |
|---|---|---|---|---|
| Antroquinonas | ( - ) | ( - ) | ( - ) | ( - ) |
| Antronas | ( + ) | ( + ) | ( + ) | ( - ) |
| Cumarinas | ( - ) | ( + ) | ( + ) | ( - ) |
| Glicosídeos cardiotônicos | ( + ) | ( - ) | ( + ) | ( + ) |
| Alcaloides | ( + ) | ( - ) | ( - ) | ( - ) |
| Flavonoides | ( + ) | ( + ) | ( + ) | ( + ) |
| Terpenos | ( + ) | ( + ) | ( + ) | ( - ) |

(+) = presente; (-) = ausente

Quanto a presença de antraquinonas, a visualização foi negativa paratodas as frações, este resultado diverge com o obtido por Scheid *et al.* (2018) que visualizaram antraquinonas em todas as frações obtidas das folhas de *S. terebinthifolius* (extrato hexânico, de diclorometano, de acetato de etila e metanólico) e no trabalho de Costa (2021) onde apenas os extratos etanólicos das folhas demonstraram presença de antraquinonas. Antronas foi negativa apenas na subfração C1, de forma similar às antraquinonas, que são estruturalmente relacionadas às antronas, têm demonstrado inibir o crescimento de vários microrganismos patogênicos, mas o mecanismo de ação pelo qual esse grupo exerce sua ação antibacteriana não é bem estudado (Megeressa *et al*., 2015).

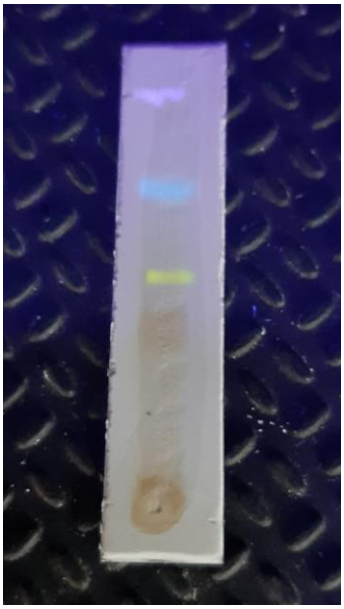
Nas subfrações A2 e B2 mostraram-se presentes as cumarinas, uma classe de composto fenólico. A função das cumarinas está relacionada com o mecanismo de defesa das plantas contra herbívoros e microrganismos (Matos *et al*., 2014).

Flavonoides, como miricetina, quercetina e tetrahidroamentoflavona, foram identificados nas folhas de *Schinus terebinthifolius*, conforme relatado por Nascimento *et al*. (2023). Esse composto é conhecido por suas diversas funções biológicas, incluindo a proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias, além de desempenharem papel na atração de animais para a polinização. Foram positivos para os extratos de hexano, acetato de etila e etanol (Costa, 2021). No contexto do nosso estudo, os flavonoides derivados das folhas de *S. terebinthifolius* mostraram-se presentes em todos os grupos testados, corroborando com achados anteriores.

O perfil fitoquímico obtido do extrato etanólico também foi observado por Bitencourt *et al*. (2021), onde foi possível observar a identificação de flavonoides, terpenos, antocianinas, taninos e heterosídios cardioativos. Nessa perspectiva, Costa *et al*. (2015) também observaram no extrato etanólico de *S. terebinthifolius* a presença de compostos fenólicos e ausência total de taninos condensados, porém não observaram flavonoides.

De acordo com Silva *et al*. (2015) destacaram como principais metabólitos secundários encontrados nas folhas de *S. terebinthifolius*, os alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, flavonoides, conforme encontrados neste estudo (Figura 2). A imagem mostra a presença de manchas azuis (cumarinas) e amarelas (antronas) sob luz UV em 365 nm. Além disso, possui coloração laranja (flavonoides) e marrom (terpenos) sob luz visível, embora estas não correspondem na figura 2.

**Figura 2** - Cromatograma da subfração A2 realizada por CCD. Fase móvel: acetato de etila:hexano (4:6) visualizado por câmera UV



Fonte: Autoria própria.

As folhas de *Schinus terebinthifolius* são especialmente ricas em compostos como fenóis, flavonas, xantonas, flavonoides, flavononas, leucoantocianidinas e esteroides livres (Lima *et al*., 2006). Estudos destacam que as plantas da família Anacardiaceae são conhecidas por sua rica composição química, incluindo compostos fenólicos, flavonoides e terpenos, como identificados neste trabalho (El-Massry *et al.*, 2009; Santana *et al.*, 2012; Rocha *et al.*, 2018; Gomes *et al.*, 2020).

No entanto, diferentemente de um estudo que relatou atividade inibitória do extrato etanólico de *S. terebinthifolius* contra *Salmonella* Typhimurium (Silva *et al*, 2021) onde foi observada inibição da bactéria em concentrações de 10 mg/mL e 20 mg/mL utilizando o teste de difusão em ágar por poços, nosso estudo não detectou inibição significativa dessa cepa. Essa diferença pode ser atribuída a vários fatores, como a concentração mais alta utilizada no estudo de Silva *et al*., variações nas cepas bacterianas, a época do ano em que a planta foi colhida ou diferenças nos compostos bioativos presentes no extrato.

A descoberta da atividade inibitória contra *S.* Dublin é particularmente expressiva em nosso estudo, dado que nenhum trabalho científico anterior relatou a eficácia de *S. terebinthifolius* contra esta cepa específica de *Salmonella*. Isso abre novas perspectivas para o uso deste extrato no controle de infecções causadas por bactérias gram-negativas, onde a resistência antimicrobiana tem se tornado um desafio crescente.

Ademais, os resultados sugerem que a composição química dos extratos de *S. terebinthifolius*, rica em ácidos fenólicos, flavonoides e terpenos, pode ser a chave para suas propriedades antimicrobianas. Estudos futuros devem se concentrar na identificação e isolamento de compostos específicos, bem como na investigação dos mecanismos de ação envolvidos na atividade antimicrobiana observada.

## CONCLUSÕES

1. A fração de acetato de etila das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi e suas subfrações apresentam atividade antimicrobiana significativa contra *Salmonella* Dublin.
2. As frações de AcOEt e subfrações A2 e B2 mostram os menores valores de CIM, indicando alta atividade antimicrobiana, enquanto a subfração C1 apresentou uma atividade moderada.
3. A análise fitoquímica revela a presença de fenóis, flavonóides e terpenos, conhecidos por suas propriedades antimicrobianas.
4. Foram observados a presença de antronas, sem evidências desse composto em outras literaturas sobre a aroeira, sugerindo uma nova descoberta na composição química da planta.
5. Este estudo é o primeiro a avaliar a atividade do extrato e frações de *S. terebinthifolius* contra *Salmonella* Dublin.

## REFERÊNCIAS

BITENCOURT, G. A.; GONÇALVES, C. C. M.; ROSA, A.; ZANELLA, D. M. R. (2021). Fitoquímica e Alelopatia da Aroeira -Vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na Germinação de Sementes. **Ensaios e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, *[S. l.]*, v. 25, n. 1, p. 02–08, 2021. DOI: 10.17921/1415-6938.2021v25n1p02-08.

COSTA, C. O. S. C.; RIBEIRO, P. R.; LOUREIRO, M. B.; SIMÕES, R. C.; de CASTRO, R. D.; FERNANDEZ, L. G. Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of extracts prepared from different tissues of *Schinus terebinthifolius* Raddi that occurs in the coast of Bahia, Brazil. **Pharmacognosy Magazine**. 2015 Jul-Sep;11(43):607-14. DOI: 10.4103/0973-1296.160459. PMID: 26246739; PMCID: PMC4522850.

COSTA, I. D. C. **Estudo fitoquímico, atividade antibacteriana e fitotóxica de extratos de *Schinus terebinthifolius* Raddi**. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal do Paraná, Palontina, 2021.

CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard, 9th ed. CLSI document M7-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Reference method for Broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard, 3th ed. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.

CHASSAGNE, F.; SAMARAKOON, T.; PORRAS, G.; LYLES, J. T.; DETTWEILER, M.; MARQUEZ, L.; SALAM, A. M.; SHABIH, S.; FARROKHI, D. R.; QUAVE, C. L. A. A Systematic Review of Plants With Antibacterial Activities: A Taxonomic and Phylogenetic Perspective. **Front Pharmacol**. 2021 Jan 8;11:586548. DOI: 10.3389/fphar.2020.586548. PMID: 33488385; PMCID: PMC7821031.

EL-MASSRY, K. F.; EL-GHORAB, A. H.; SHAABAN, H. A.; SHIBAMOTO, T. (2009). Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57(12), 5265–5270. DOI: https://doi.org/10.1021/jf900638c.

GOMES, F. S.; PROCÓPIO, T. F.; NAPOLEÃO, T. H, COELHO, L. C.; PAIVA, P. M. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of Applied Microbiology**. 2013, Mar;114(3):672-9. DOI: 10.1111/jam.12086. Epub 2012 Dec 28. PMID: 23190078.

GOMES, R. B. A., SOUZA, E. S., BARRAQUI, N. S. G., TOSTA, C. L., NUNES, A. P. F., SCHUENCK, R. P., RUAS, F. G., VENTURA, J. A., FILGUEIRAS, P. R., & KUSTER, R. M. (2020). Residues from the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolia* Raddi) processing industry: Chemical profile and antimicrobial activity of extracts against hospital bacteria. **Industrial Crops and Products**, 143, 111430. DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.079.

HARUNA, A.; YAHAYA, S. M. Recent Advances in the Chemistry of Bioactive Compounds from Plants and Soil Microbes: a Review. **Chemistry Africa** 4, 231–248 (2021). DOI: https://doi.org/10.1007/s42250-020-00213-9

HÖRNER, M.; GIGLIO, V.F.; SANTOS, A.J.R.W.A.; WESTPHALEN, A.B.; INGLESIAS, B.A.; MARTINS, P.R.; AMARAL, C.H.; MICHELOT, T.M.; REETZ, L.G.B.; BERTONCHELI, C.M.; PARAGINSKI, G.L.; HORNER, R. Triazenos e 79 atividade antibacteriana. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 441-449, 2008.

LIMA, M. R.; SOUZA, L. J.; SANTOS A. F.; ANDRADE, M. C.; SANT'ANA, A. E.; GENET, J. P.; MARQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacol**. 2006, Apr 21;105(1-2):137-47. DOI: 10.1016/j.jep.2005.10.026. Epub 2005 Dec 13. PMID: 16356672.

MATOS, M. J.; LOURDES, S.; EUGENIO, U.; ORLANDO, A. A.; ENRIQUE, M.; ESTELA, G. Y. 2015. 'Coumarins — An Important Class of Phytochemicals'. **Phytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health**. InTech. DOI:10.5772/59982.

MEGERESSA, M., BISRAT, D., MAZUMDER, A. Structural elucidation of some antimicrobial constituents from the leaf latex of *Aloe trigonantha* L.C. Leach. **BMC Complement Altern Med** 15, 270 (2015). https://doi.org/10.1186/s12906-015-0803-4.

MIRANDA, D. M.; ROCHA, M. P. Avaliação da atividade antibacteriana do extrato etanólico de folhas e cascas de *Eucalyptus globulus* Labill. frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, *[S. l.]*, v. 4, n. 1, p. 27–38, 2022. DOI: 10.29327/226760.4.1-3.

NASCIMENTO, M. S.; SANTOS, P. H.; ABREU, F. F. *Schinus terebinthifolius* Raddi (Brazilian pepper) leaves extract: *in vitro* and in vivo evidence of anti-inflammatory and antioxidant properties. **Inflammopharmacol** 31, 2505–2519, 2023. DOI: https://doi.org/10.1007/s10787-023-01316-8

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 (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 18(2): 301-307, 2008. DOI: https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200026.

ROCHA, P. D. S.; CAMPOS, J. F.; NUNES-SOUZA, V.; CARMO V. M.; de ARAÚJO B. A. P.; RABELO, L. A.; dos SANTOS, E. L.; PICOLI S. K. (2018). Antioxidant and protective effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi against doxorubicin-induced toxicity. **Applied biochemistry and biotechnology**, 184(3), 869-884. DOI: https://doi.org/10.1007/s12010-017-2589-y.

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

SABUDAK, T.; DOKMECH, D.; OZYGIT, F.; ISIK, E.; AYDOGDU, N. (2005) Antiinflammatory and Antioxidant Activities of *Trifolium resupinatum* var. microcephalum Extracts. **Asian Journal of Chemistry**, 20:1491-1496

SANTANA, J. S., SARTORELLI, P., GUADAGNIN, R. C., MATSUO, A. L., FIGUEIREDO, C. R., SOARES, M. G.; LAGO, J. H. G. (2012). Essential oils from *Schinus terebinthifolius* leaves – chemical composition and *in vitro* cytotoxicity evaluation. **Pharmaceutical biology**, *50*(10), 1248–1253. https://doi.org/10.3109/13880209.2012.666880

SCHEID, T.; MORAES, M. S.; HENRIQUES, T. P.; RIFFEL, A. P. K.; BELLÓ-KLEIN, A.; POSER, G. L. V.; Ethur, E. M.; Partata, W. A. Effects of Methanol Fraction from Leaves of *Schinus terebinthifolius* Raddi on Nociception and Spinal-Cord Oxidative Biomarkers in Rats with Neuropathic Pain. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicin**e. 2018 May 3;2018:5783412. DOI: 10.1155/2018/5783412. PMID: 29853960; PMCID: PMC5960562.

SILVA, M. M.; SOARES, L. B.; AQUINO, P. G. V.; LIMA, G. C.; SILVA, M. A. S.; BARBOSA, M. A. P.; MOREIRA, K. A. Avaliação antimicrobiana de extratos etanólicos de aroeira, cajueiro-roxo, sambacaitá e unha-de-gato. I Congresso de Iniciação Científica da UFAPE. **Anais de congresso,** v.1, p.106, 2021.

SILVA, L. R.; OLIVEIRA, A. A.; LIMA, R. A. (2015). Identificação dos metabólitos secundários do extrato etanólico das folhas de *schinus terebinthifolius* Raddi. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, 2(2). Recuperado de https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/362

SOUSA, D. S.; GIANCARLOS, C. R.; GASPAR, L. M. A. C.; MACHADO, E. O. X.; VALVERDE, F. G.; PADILHA, F. F.; DROPPA-ALMEIDA, D. (2021). Análise prospectiva científica e tecnológica sobre *Myracrodruon urundeuva* (aroeira do sertão) e a resistência bacteriana. **Research, Society and Development**. 10. e138101119505. 10.33448/rsd-v10i11.19505. DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19505.

TLILI, N.; YAHIA, Y.; FERIANI, A.; LABIDI, A., GHAZOUANI, L.; NASRI, N.; SAADAOUI, E.; KHALDI, A. (2018). *Schinus terebinthifolius* vs *Schinus molle*: A comparative study of the effect of species and location on the phytochemical content of fruits. **Industrial Crops and Products**. 122, 559–565. DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.080.

TAMOKOU, J. D.; MBAVENG, A.; KUETE, V. (2017). Antimicrobial Activities of African Medicinal Spices and Vegetables. In: **Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Therapeutic Potential against Metabolic Inflammatory Infectious and Systemic Diseases, Academic Press**, Cambridge, 207-237. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6.00008-X.

ULIANA, M. P., FRONZA, M., SILVA, A. G., VARGAS, T. S., ANDRADE, T. U., & SCHERER, R. (2016). Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. **Industrial Crops and Products**, 83, 235–240. DOI: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.077.

WAGNER, H; BLADT, S. Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas. **2nd Edition, Springer-Verlag,** Berlin, 1996. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9.

# 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou que a fração de acetato de etila derivada das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi e suas subfrações apresentam atividade antimicrobiana significativa, especialmente contra a bactéria *Salmonella* Dublin. A frações de AcOEt e subfrações A2 e B2 mostraram os menores valores de CIM, indicando alta atividade antimicrobiana, enquanto a subfração C1 apresentou uma atividade moderada. Estes resultados destacam a eficácia do extrato etanólico e de suas frações como agentes antimicrobianos, corroborando sua potencial aplicação na medicina veterinária.

Além disso, a análise química revelou a presença de compostos bioativos, como fenóis, flavonoides, e terpenos, que são conhecidos por suas propriedades antimicrobianas. A sinergia entre esses compostos pode ser responsável pela atividade observada, sugerindo uma relação direta entre a composição química e a atividade biológica do extrato e suas frações. Além disso, foi observado que as antronas estavam presentes apenas neste trabalho, sem evidências desse composto em outras literaturas sobre a aroeira. Isso sugere que pode haver uma nova descoberta na composição química da planta, que precisa ser explorada em estudos futuros.

Este estudo contribui significativamente para o conhecimento científico, sendo a primeira vez que a atividade do extrato e frações de *S. terebinthifolius* é avaliada contra *Salmonella* Dublin. Os dados obtidos não apenas ampliam a compreensão sobre o potencial antimicrobiano da aroeira, mas também abrem novas perspectivas para o uso de seus extratos em diferentes campos, incluindo a pecuária bovina, onde a ação antimicrobiana do extrato etanólico das folhas mostrou-se promissora.

## ANEXO A: NORMAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGO CIENTÍFICO

### Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira

### Diretrizes para Autores/ Escopo e política editorial

A revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB) é uma publicação em formato contínuo anual e em acesso aberto da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas e Revisões a convite do Editor.

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos (não terem dados – tabelas e figuras – publicadas parcial ou integralmente em nenhum outro veículo de divulgação técnico-científica, como boletins institucionais, anais de eventos, comunicados técnicos, notas científicas etc.) e não podem ter sido encaminhados simultaneamente a outro periódico científico ou técnico. Dados publicados na forma de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho.

- São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor.
- Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.
- O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas.

**Informações necessárias para submissão on-line de trabalhos na PAB, no sistema ScholarOne:**

Para fazer a submissão, o autor correspondente deve criar uma conta no sistema ScholarOne (https://mc04.manuscriptcentral.com/pab-scielo) para obter um login e uma senha. Para completar o registro, o autor que fará a submissão do trabalho precisa criar um ID Orcid ou associar a sua conta a um ID Orcid existente.

Para iniciar a submissão, clicar em “Autor”/“Author” e, em seguida, em “Iniciar Nova Submissão”/“Start New Submission” e em “Iniciar Submissão”/“Begin Submission”. Siga as orientações descritas no sistema. Fazendo o up-load do arquivo word do manuscrito o sistema preenche automaticamente os campos da submissão.

Após carregar o trabalho a ser submetido, **no passo 1 da submissão ("Etapa 1: Tipo, título e resumo"/"Step 1: Type, Title, & Abstract")**, informar o tipo de manuscrito e inserir o título e o abstract do trabalho.

**No passo 2 da submissão ("Etapa 2: Carregamento de arquivo"/"Step 2: File upload")**, os seguintes arquivos devem ser carregados:

2.1. Arquivo 1, cuja designação deve ser "Documento principal"/"Main document" – É o trabalho completo (Title, Abstract, Index terms, Título, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusion, References, Tables and Figures) em arquivo Microsoft Word. O trabalho não deve ter nenhuma identificação de autoria e de local da realização da pesquisa.

2.2. Arquivo 2, cuja designação dever ser "Arquivo complementar que Não é para avaliação"/"Supplemental file NOT for review" – São os arquivos originais em que as figuras foram preparadas na forma de gráficos e que devem ser carregados separados, para futura edição. Não usar a designação "Figura"/"Figure" e "Tabela"/"Table" para carregar figuras e tabelas.

2.3. Arquivo 3, cuja designação também deve ser "Arquivo complementar que Não é para avaliação"/"Supplemental file NOT for review" – É a página de rosto ("cover page") com o "title", "running title", nome completo dos autores, endereços institucionais, autor correspondente e IDs Orcid.

2.4. Arquivo 4, cuja designação também deve ser "Arquivo complementar que Não é para avaliação"/"Supplemental file NOT for review" – É um arquivo Word ou PDF contendo todas as cartas (mensagens de e-mail) de concordância dos coautores conforme as instruções a seguir: Peça aos coautores que lhe enviem um e-mail de concordância (veja conteúdo abaixo), encaminhe-o para o seu próprio e-mail para gerar os dados da mensagem original (assunto, data, de e para), selecione todo o e-mail, copie o e-mail e depois cole-o em arquivo Word para que todas as cartas de concordâncias dos coautores sejam carregadas em um mesmo arquivo.

Conteúdo da carta de concordância:

"Eu,_____, concordo com o conteúdo do trabalho intitulado "_____" e com a submissão para publicação na revista PAB.

**No passo 3 da submissão ("Atributos"/"Attributes")**, incluir a área de conhecimento do trabalho e os termos para indexação.

**No passo 4 ("Autores e instituições"/"Authors & Institutions")**, cadastrar o nome e o endereço institucional completos de todos os autores do trabalho, na ordem de autoria. Para

evitar cadastros duplicados de autores, o autor correspondente deve fazer uma busca no sistema antes de cadastrar os coautores.

**No passo 5 da submissão ("Avaliadores"/"Reviewers")**, indicar, pelo menos, um potencial assessor científico com doutorado para avaliar o trabalho. O assessor indicado não pode ter trabalhado com os autores nem ser da mesma instituição dos autores.

**No passo 6 da submissão ("Detalhes e comentários"/"Details & Comments")**, carregar ou colar o arquivo da carta de apresentação. Em seguida, preencher as demais informações sobre financiamento e conflitos de interesse e confirmar os itens iniciados por "Confirme que"/"Confirm that".

A carta de apresentação deve ser escrita em inglês e deve ser usada para certificar que seu manuscrito é inédito e original e que não foi submetido, aceito para publicação, nem publicado em outra revista ou em outro lugar em sua forma final, impressa ou em formato eletrônico. Os autores devem indicar a relevância/importância do seu trabalho ou indicar os cinco principais destaques do seu manuscrito.

**No passo 7 da submissão ("Avaliar e submeter"/"Review & Submit")**, checar se está faltando informação em alguma etapa, visualizar a prova em "Visualizar prova"/"View proof" e confirmar a concordância com a publicação em acesso aberto, para que seja possível submeter o seu manuscrito.

**Organização do artigo científico**

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

- Artigos em inglês - Title, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.
- O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em espanhol.
- O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

**Título**

- Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.
- Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como "efeito" ou "influência".

- Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.
- Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.
- As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

**Nomes dos autores**

- Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção "and".
- O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

**Endereço dos autores**

- São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.
- Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.
- Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

**Abstract/Resumo**

- O termo Abstract, ou Resumo, deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.
- Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.
- Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão.
- Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.
- O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

**Termos para indexação**

- A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.
- Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.
- Não devem conter palavras que componham o título.
- Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.
- Devem, preferencialmente, ser termos contidos no AGROVOC: Multilingual Agricultural Thesaurus ou no Índice de Assuntos da base SciELO .

**Introdução**

- A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.
- O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

**Material e Métodos**

- A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.
- Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.
- Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.
- Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.
- Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.
- Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.
- Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.
- Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.
- Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

**Resultados e Discussão**

- A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.
- As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.
- Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores.
- Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados.
- Dados não apresentados não podem ser discutidos.
- Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.

- As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.
- Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.
- As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

**Conclusões**

- O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo.
- Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho.
- Não podem consistir no resumo dos resultados.
- Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.
- Devem ser numeradas e no máximo cinco.

**Agradecimentos**

- A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser breves e diretos, iniciando-se com “Ao, Aos, À ou Às” (pessoas ou instituições).
- Devem conter o motivo do agradecimento.

**Referências**

- A palavra *Referências* deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.
- Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.
- Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.
- Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.
- Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.
- Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.
- Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.
- Devem ser trinta, no máximo.

Exemplos:

- Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos):

SOUSA, A.B.O. de; SOUZA NETO, O.N. de; SOUZA, A.C.M. de; SAMPAIO, P.R.F.; DUARTE, S.N. Trocas gasosas e desenvolvimento inicial de mini melancia sob estresse salino. In: INOVAGRI INTERNATIONAL MEETING, 2., Fortaleza, 2014. **Anais**. Fortaleza: Inovagri, 2014. p.3813-3819. DOI: 10.12702/ii.inovagri.2014-a510.

- Artigos de periódicos:

SILVA, T. P. da; VIDAL NETO, F. das C.; DOVALE, J.C. Prediction of genetic gains with selection between and within S2 progenies of papaya using the REML/Blup analysis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.52, p.1167-1177, 2017. DOI: 10.1590/s0100-204x2017001200005

- Capítulos de livros:

SHAHZAD, A.; PARVEEN, S.; SHARMA, S.; SHAHEEN, A.; SAEED, T.; YADAV, V.; AKHTAR, R.; AHMAD, Z.; UPADHYAY, A. Plant tissue culture: applications in plant improvement and conservation. In: ABDIN, M.Z.; KIRAN, U.; KAMALUDDIN, ALI, A. (Ed.). **Plant Biotechnology**: principles and applications. Singapore: Springer, 2017. p.37-72. DOI: 10.1007/978-981-10-2961-5_2.

- Livros:

SANTOS, H.G. dos; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C. dos; OLIVEIRA, V.A. de; LUMBRERAS, J.F.; COELHO, M.R.; ALMEIDA, J.A. de; CUNHA, T.J.F.; OLIVEIRA, J.B. de. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. rev. e ampl. Brasília: Embrapa, 2013. 353p.

- Teses:

SAMUEL-ROSA, A. **Análise de fontes de incerteza na modelagem espacial do solo**. 2016. 278p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.

- Fontes eletrônicas

EMBRAPA. **Zoneamento agroecológico**. Available at: <https://www.embrapa.br/tema-zoneamento-agroecologico>. Accessed on: Apr. 10 2018.

**Citações**

- Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados. - A autocitação deve ser evitada. - Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

- Redação das citações dentro de parênteses

- Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.
- Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.
- Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.
- Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.
- Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.
- Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão “citado por” e da citação da obra consultada.
- Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.
- Redação das citações fora de parênteses
- Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

**Fórmulas, expressões e equações matemáticas**

- Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.
- Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

**Tabelas**

- As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências.
- Devem ser auto-explicativas.
- Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.
- Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.
- O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes.

- No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.
- Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.
- Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo.
- Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.
- Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.
- Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.
- As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.
- Notas de rodapé das tabelas
- Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.
- Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto.
- Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); * e ** (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

**Figuras**

- São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.
- Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.
- O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.

- Devem ser auto-explicativas.
- A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.
- Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.
- Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.
- O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração. - As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.
- Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).
- Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante.
- As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.
- Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.
- Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções.
- Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.
- No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).
- Não usar negrito nas figuras.
- As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.
- Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.

**Notas Científicas**

- Notas científicas são breves comunicações, cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito de importância, mas com volume insuficiente para constituir um artigo científico completo.

Apresentação de Notas Científicas

- A ordenação da Nota Científica deve ser feita da seguinte forma: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, texto propriamente dito (incluindo introdução, material e métodos, resultados e discussão, e conclusão, sem divisão), Referências, tabelas e figuras.
- As normas de apresentação da Nota Científica são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:
- Resumo com 100 palavras, no máximo.
- Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras.
- Deve apresentar, no máximo, 15 referências e duas ilustrações (tabelas e figuras).

**Outras informações**

- Não há cobrança de taxa de publicação.
- Os manuscritos aprovados para publicação são revisados por no mínimo dois especialistas.
- O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações nos artigos e de decidir sobre a sua publicação.
- São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos.
- Os trabalhos aceitos não podem ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da PAB.

Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos pelo telefone (61)3448-2461 ou via e-mail sct.pab@embrapa.br

****