



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biociências

ANTÔNIO LUCAS DE SOUZA OLIVEIRA

**Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de  
*Schinus terebinthifolius* contra membros do grupo  
ESKAPE-E**

Recife  
2025

ANTÔNIO LUCAS DE SOUZA OLIVEIRA

**Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de  
*Schinus terebinthifolius* contra membros do grupo  
ESKAPE-E**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação em  
Biomedicina da Universidade Federal de  
Pernambuco, como pré-requisito à  
obtenção do título de Bacharel em  
Biomedicina.

Orientadora: Professora Dra. Amanda  
Maria da Silva

Co-Orientadora: Professora Dra. Gláucia  
Manoella de Souza Lima Gomes

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE**

Oliveira, Antônio Lucas de Souza.

Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* contra membros do grupo ESKAPE-E / Antônio Lucas de Souza Oliveira. - Recife, 2025.

54 p. : il., tab.

Orientador(a): Amanda Maria da Silva

Coorientador(a): Gláucia Manoella de Souza Lima Gomes

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025.

Inclui referências, apêndices.

1. Infecções Relacionadas à Assistência em Saúde (IRAS). 2. Monoterpenos. 3. Bactérias Multidroga resistentes. 4. Concentração Mínima Inibitória (CMI). 5. Produtos Naturais. I. Silva, Amanda Maria da. (Orientação). II. Gomes, Gláucia Manoella de Souza Lima. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

ANTÔNIO LUCAS DE SOUZA OLIVEIRA

**Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* contra membros do grupo ESKAPE-E**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação  
em Biomedicina da Universidade  
Federal de Pernambuco, como  
pré-requisito à obtenção do título de  
Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dra. Amanda Maria da Silva  
Centro Universitário do Recife Unipesu

---

Msc. Nathali Gregório de Santana  
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Antibióticos

---

Msc. Nínive Bezerra Florêncio  
Universidade Federal de Pernambuco/ Departamento de Antibióticos

Dedico esse trabalho à minha família, por ser meu alicerce em cada etapa desta jornada. Pelo apoio silencioso nos dias difíceis, pela força oferecida quando faltou a minha, e por acreditarem em mim mesmo quando eu duvidei. Cada conquista presente neste trabalho também pertence a vocês.

Com gratidão e amor.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à minha orientadora Professora Dra. Amanda Maria da Silva e a coorientadora Professora Dra. Gláucia Manoella de Souza Lima Gomes, por todo apoio, ensinamentos e paciência durante a jornada que foi a realização deste trabalho.

Agradeço ao departamento de Antibióticos por fornecer toda infraestrutura e insumos necessários para realização deste estudo, assim como toda equipe de técnicos por toda a ajuda dos aspectos mais práticos do projeto, bem como pela amizade.

Aos amigos de laboratório, por todos os conhecimentos compartilhados, toda camaradagem e apoio em momentos difíceis tanto na execução da pesquisa quanto no âmbito pessoal.

À banca examinadora por ceder seu tempo e conhecimento para análise do meu trabalho.

À minha mãe adotiva, Selma, por seu amor incondicional, por seu apoio inestimável e por todos os incentivos durante toda a minha vida. Sem a senhora eu não teria chegado onde estou, eu agradeço eternamente por todas as palavras de carinho, todo o cuidado e preocupação, a senhora é minha base.

Ao meu pai adotivo, Carlos, que partiu esse ano, mas deixou para trás todas as lições sobre responsabilidade, todo o incentivo para que eu conquistasse um futuro melhor, todas as memórias de amor e carinho. O senhor era o pilar da minha vida, e eu farei de tudo para lhe dar orgulho mesmo que não esteja mais aqui.

Gostaria de agradecer À minha noiva, Brenda, por todo o apoio emocional, por todo o incentivo durante os momentos de exaustão e por ser a luz em minha vida. Não teria suportado as dificuldades desta jornada sem você ao meu lado.

À todos que contribuíram de forma direta ou indireta para realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos

OLIVEIRA, Antônio Lucas de Souza. **Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* contra membros do grupo ESKAPE-E.** 2025. 53 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

## RESUMO

O grupo ESKAPE-E engloba os principais patógenos multirresistentes associados a infecções relacionadas à assistência à saúde, o que reforça a necessidade de novas alternativas terapêuticas. Nesse contexto, o óleo essencial de *Schinus terebinthifolius*, rico em terpenos e tradicionalmente utilizado na medicina popular, foi avaliado quanto à sua composição química, atividade antimicrobiana e ação bactericida frente a essas bactérias. A caracterização por GC-MS e GC-FID revelou predominância de monoterpenos no óleo essencial, destacando-se delta-3-careno, silvestreno, alfa-pineno, alfa-felandreno, terpinoleno e mirceno, compostos reconhecidos por atividade antimicrobiana. A atividade antimicrobiana foi avaliada por microdiluição em Caldo para determinação da concentração mínima inibitória (CMI) e a confirmação da concentração mínima bactericida (CMB) por meio de semeio em ágar. O óleo essencial apresentou maior atividade contra *E. coli*, seguida por *P. aeruginosa* e *E. faecalis*, enquanto *S. aureus* e *K. pneumoniae* mostraram menor sensibilidade. No ensaio de tempo de morte foi realizado com a cepa mais sensível ao óleo (menor MIC). A bactéria foi incubada em meio caldo Mueller-Hinton contendo óleo essencial em diferentes concentrações da CMI, com aferição da densidade óptica a 625 nm nos tempos 0, 4, 8, 12 e 24 horas. O ensaio de tempo de morte demonstrou efeito parcialmente inibitório em concentrações abaixo da CMI e ação bactericida a partir da CMI, sem ganho adicional em concentrações superiores. De modo geral, o óleo essencial de *S. terebinthifolius* apresentou atividade antimicrobiana relevante contra patógenos Gram-positivos e Gram-negativos do grupo ESKAPE-E, destacando-se pela maior eficácia frente a *E. coli* e seu potencial no controle de infecções hospitalares por bactérias multirresistentes.

**Palavras-chave:** Infecções Relacionadas à Assistência em Saúde (IRAS), Monoterpenos, Bactérias Multidroga resistentes, Concentração Mínima Inibitória (CMI), Produtos Naturais.

Oliveira, Antônio Lucas de Souza. **Evaluation of antimicrobial activity of *Schinus terebinthifolius* essential oil against members of ESKAPE-E.** 2025. 53 pages. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

## ABSTRACT

The ESKAPE-E group comprises the main multidrug-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections, reinforcing the need for new therapeutic alternatives. In this context, the essential oil of *Schinus terebinthifolius*, rich in terpenes and traditionally used in folk medicine, was evaluated for its chemical composition, antimicrobial activity, and bactericidal action against these bacteria. Characterization by GC–MS and GC–FID revealed a predominance of monoterpenes in the essential oil, with delta-3-carene, sylvestrene, alpha-pinene, alpha-phellandrene, terpinolene, and myrcene as the major constituents, all recognized for their antimicrobial properties. Antimicrobial activity was assessed by broth microdilution to determine the minimum inhibitory concentration (MIC), and the minimum bactericidal concentration (MBC) was confirmed by agar plating. The essential oil showed the highest activity against *E. coli*, followed by *P. aeruginosa* and *E. faecalis*, whereas *S. aureus* and *K. pneumoniae* exhibited lower susceptibility. The time-kill assay was performed using the most sensitive strain (lowest MIC), with bacteria incubated in Mueller–Hinton broth containing the essential oil at different MIC-related concentrations, and growth monitored by optical density at 625 nm at 0, 4, 8, 12, and 24 hours. The time-kill assay demonstrated a partially inhibitory effect at concentrations below the MIC and a bactericidal effect at the MIC, with no additional activity at higher concentrations. Overall, the essential oil of *S. terebinthifolius* showed relevant antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative ESKAPE-E pathogens, particularly against *E. coli*, highlighting its potential as an alternative for the control of hospital infections caused by multidrug-resistant bacteria.

**Key words:** Healthcare-associated infections (HAIs), Monoterpenes, Multidrug-resistant Bacteria, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Natural Products.

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

MDR	Multidroga Resistente
OMS	Organização Mundial da Saúde
OE <sub>s</sub>	Óleos Essenciais
RAM	Resistência Antimicrobiana
EMAs	Enzimas Modificadoras de Aminoglicosídeos
PLPs	Proteínas Ligantes de Penicilina
MPE	Matriz Polimérica Extracelular
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência em
Saúde	
VRE	<i>Enterococcus</i> Resistente a Vancomicina
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Meticilina
VISA	<i>Staphylococcus aureus</i> Intermediário a Vancomicina
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente a Vancomicina
KPC	Carbapenemase Produzida por <i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i>
cKp	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Clássica
hvKp	<i>Klebsiella pneumoniae</i> de Alta Virulência
GC-MS	Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massa
GC-FID	Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização em Chamas

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	11
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	14
2.1	Resistência Antimicrobiana	14
2.2	Grupo ESKAPE-E	16
2.2.1	<i>Enterococcus faecium</i>	17
2.2.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.2.3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	19
2.2.4	<i>Acinetobacter baumannii</i>	21
2.2.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
2.2.6	<i>Enterobacter spp.</i>	24
2.2.7	<i>Escherichia coli</i>	25
2.3	Óleos essenciais	26
2.3.1	<i>Schinus terebinthifolius</i>	27
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	29
3.1	Objetivos Gerais	29
3.2	Objetivos Específicos	29
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	30
4.1	Obtenção do óleo essencial e caracterização química por GC-MS e GC-FID	30
4.2	Determinação dos valores de Concentração Mínima Inibitória e Concentração Mínima Bactericida	31
4.3	Determinação do Tempo de Morte	32
4.4	Análise Estatística	33
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO E RESULTADOS</b>	34
5.1	Caracterização química do óleo	34
5.2	Determinação dos valores de CMI e CMB	35
5.3	Determinação do Tempo de Morte	39
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	42

**APÊNDICES**

APÊNDICE A – Meios utilizados para realização dessa pesquisa e sua composição 53

## 1. Introdução

Globalmente, observa-se um crescimento no número de casos de infecções causadas por microrganismos multidroga resistentes (MDR), tanto em comunidade quanto no ambiente hospitalar, especialmente em unidades de tratamento intensivo, reconhecidas como importantes focos de infecções oportunistas (Organização Mundial da Saúde, 2024; De Oliveira *et al.*, 2020). Esse problema está diretamente associado ao uso prolongado e indiscriminado de antibióticos, não apenas no ambiente clínico, mas também em áreas como a agropecuária (Poudel *et al.*, 2023). Estima-se que, caso não sejam implementadas medidas de controle, o número de mortes anuais decorrentes de infecções por microrganismos MDR poderá alcançar 10 milhões em 2050 (Poudel *et al.*, 2023; Johani *et al.*, 2018; Organização Mundial da Saúde, 2024).

Entre os principais agentes envolvidos na crise de resistência bacteriana estão os microrganismos do grupo ESKAPE-E, composto por *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes* e *Escherichia coli*, todos listados pela Organização Mundial da Saúde como bactérias patogênicas prioritárias (Organização Mundial da Saúde, 2024). Esses patógenos são os principais causadores de infecções nosocomiais, apresentam altos níveis de morbidade e mortalidade, além de resistência a diversas classes de antibióticos, desde os de uso rotineiro, como beta-lactâmicos e macrolídeos, até os de última linha, como polimixinas e carbapenêmicos (De Oliveira *et al.*, 2020; Rice, 2009).

A expansão da resistência antimicrobiana é agravada pelo desaceleramento na descoberta de novos fármacos no século XXI, com um número cada vez menor de antibióticos aprovados anualmente (Mulani *et al.*, 2019; Organização Mundial da Saúde, 2020). Nesse cenário, torna-se essencial o desenvolvimento de alternativas terapêuticas eficazes no combate a microrganismos multirresistentes.

Os óleos essenciais (OEs) têm se destacado pela sua comprovada atividade antimicrobiana, configurando importantes alternativas aos fármacos tradicionais. Eles são metabólitos secundários vegetais responsáveis por funções de defesa contra predadores e microrganismos (Dannenberg *et al.*, 2019; Da Silva *et al.*, 2023),

apresentando composição química variável conforme a espécie, condições ambientais, localização geográfica e parte da planta utilizada, podendo conter centenas de compostos bioativos (Ramsey *et al.*, 2020; Silva; Oliveira; Souza, 2022; Qian, Zhuo e Peng, 2024; Ennigrou *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2024).

Dentre as classes de compostos mais representativas dos óleos essenciais, os terpenos, em especial monoterpenos e sesquiterpenos, são frequentemente associados à atividade antimicrobiana. Esses compostos atuam de diferentes formas, incluindo o dano à membrana celular, a inibição da síntese proteica e a interferência na replicação do DNA bacteriano (Zhao *et al.*, 2024; Khwaza & Aderigbigbe, 2025).

A aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius*), popularmente conhecida como pimenta-rosa, é uma espécie nativa da América do Sul, pertencente à família Anacardiaceae e incluída no Renisus (Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS). Tradicionalmente, é utilizada na medicina popular para o tratamento de doenças respiratórias, infecções do trato urinário e em processos de cicatrização (Uliana *et al.*, 2016; Almeida-Silva *et al.*, 2022). Produtos derivados dessa planta já demonstraram atividade antimicrobiana, como: a lectina de suas folhas (Nunes *et al.*, 2022), extratos vegetais (Almeida-Silva *et al.*, 2022) e seu óleo essencial (Dannenberg *et al.*, 2016; Ennigrou *et al.*, 2018; Salem *et al.*, 2018; El-Nashar *et al.*, 2019), no entanto, existem poucos estudos que avaliem a efetividade do óleo essencial frente a patógenos de interesse clínico como o grupo ESKAPE-E.

O óleo essencial de *S. terebinthifolius* é majoritariamente constituído por monoterpenos, destacando-se alfa-pineno, beta-mirceno, alfa-felandreno, beta-felandreno e limoneno, podendo apresentar variação na composição química a depender de fatores bióticos e abióticos que interagem com a planta (Dannenberg *et al.*, 2018; Ennigrou *et al.*, 2018; Salem *et al.*, 2018; El-Nashar *et al.*, 2019). Esses compostos estão diretamente relacionados à sua atividade antimicrobiana, promovendo danos à parede celular e à membrana plasmática bacteriana, culminando no extravasamento de constituintes essenciais à viabilidade celular (Dannenberg *et al.*, 2018; El-Nashar *et al.*, 2019; Ennigrou *et al.*, 2018).

Diante disso, reforça-se a importância de novas investigações sobre o óleo essencial de *S. terebinthifolius* e seu potencial no desenvolvimento de alternativas terapêuticas frente às infecções causadas por microrganismos multirresistentes. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* frente a microrganismos do grupo ESKAPE-E.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Resistência Antimicrobiana

A resistência antimicrobiana (RAM) ocorre naturalmente nos microrganismos quando os mesmos desenvolvem mecanismos que diminuem a eficácia das drogas utilizadas para tratar infecções (Murray *et al.*, 2022). Porém o uso em larga escala de antibióticos, tanto na medicina humana quanto em outros segmentos como na medicina veterinária, levou a um aumento da pressão seletiva sobre os microrganismos, o que fez com que cepas resistentes fossem gradualmente selecionadas e disseminadas (Van Duijkeren *et al.*, 2018; Murray *et al.*, 2022).

No estudo realizado por Murray e colaboradores em 2022 foi estimado que, em 2019, patógenos resistentes a antibióticos foram responsáveis por aproximadamente 1,27 milhões de mortes no mundo, sendo cinco deles pertencentes ao grupo ESKAPE-E: *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* e *P. aeruginosa* (Murray *et al.*, 2022). No Brasil, dados do Ministério da Saúde indicam que o país registra cerca de 221 mil mortes anuais relacionadas a infecções bacterianas, das quais 34 mil são atribuídas diretamente a microrganismos resistentes, enquanto 138 mil apresentam associação com resistência. Além do impacto clínico, a disseminação dessas cepas acarreta um grande peso socioeconômico, resultando em internações prolongadas, tratamentos mais complexos e altos custos para o sistema de saúde (Brasil, Ministério da Saúde, 2024; Poudel *et al.*, 2023).

Esse aumento na incidência de cepas resistentes ocorre em paralelo a um desaceleração na descoberta de novos compostos e classes antibióticas, agravando ainda mais o cenário global (Murray *et al.*, 2022; Miller e Arias, 2024). Miethke e colaboradores relataram que somente 30 a 40 antibióticos estavam em fase de testes clínicos, e dentre esses, todos os que tinham como alvo os membros Gram-negativos do grupo ESKAPE eram de classes de antibióticos já estabelecidas (Miethke *et al.*, 2021). Isso ocorre em parte, pois grandes empresas da indústria farmacológica veem pouco ou nenhum retorno no investimento em pesquisa e desenvolvimento de novas classes de antibióticos (Miethke *et al.*, 2021).

Os mecanismos de RAM apresentados por bactérias são diversos e podem ser divididos em intrínsecos e adquiridos (Van Duijkeren *et al.*, 2018). A resistência intrínseca é específica a um gênero ou espécie bacteriana e ocorre normalmente pela incompatibilidade do modo de ação de um antimicrobiano com uma determinada bactéria, a exemplo de bactérias que não produzem parede celular como o gênero *Mycoplasma spp* e são resistentes a antibióticos que tenham essa estrutura como alvo (beta-lactâmicos, glicopeptídeos etc) (Van Duijkeren *et al.*, 2018). Esse tipo de resistência também ocorre quando um microrganismo naturalmente produz enzimas capazes de neutralizar os antimicrobianos como as beta-lactamases e inclui as bombas de efluxo produzidas por uma multitude de bactérias (Van Duijkeren *et al.*, 2018; Ahmed *et al.*, 2024).

Já a resistência adquirida ocorre por meio de mutações, que podem levar a alteração de sítios alvos ou super-expressão dos fatores de resistência intrínsecos, e também por meio da transferência de genes por meio de elementos genéticos móveis como plasmídeos, um importante mecanismo para a disseminação da resistência entre cepas e até espécies diferentes de bactérias (Van Duijkeren *et al.*, 2018; Ahmed *et al.*, 2024).

Dentre os mecanismos de resistência aos antimicrobianos, a expressão de enzimas inativadoras de antibióticos é a principal responsável pela resistência aos beta-lactâmicos, sendo conhecidas mais de mil beta-lactamases classificadas em quatro classes moleculares (A–D), das quais a classe A inclui principalmente as beta-lactamases de espectro estendido capazes de inativar penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos, a classe B corresponde às metalobetalactamases que hidrolisam antibióticos por meio de cátions divalentes e inativam carbapenêmicos.

A classe C abrange cefalosporinases não inibidas por ácido clavulânico como a AmpC (comum em Gram-negativas, cromossomal, de expressão induzível ou constitutiva e frequentemente superexpressa por mutações) e a classe D que compreende as enzimas do tipo OXA, capazes de hidrolisar oxacilina ou cloxacilina (Van Duijkeren *et al.*, 2018; Nasrollahian, 2024). Outros tipos de enzimas inativadoras produzidas são as modificadoras de aminoglicosídeos (EMAs), capazes de transferir grupamentos funcionais que diminuem ou cessam completamente a eficácia dessa classe de antibióticos (Elfadadny *et al.*, 2024).

Bactérias também podem apresentar resistência por modificações nos sítios de ligações de antibióticos (como as Proteínas Ligantes de Penicilina (PLPs) ou as subunidades ribossomais), o que confere resistência a uma gama de antibióticos como os macrolídeos e polimixinas (Van Duijkeren *et al.*, 2018; Nasrollahian, 2024). A modificação na permeabilidade da membrana também pode levar a resistência, como exemplo a alteração estrutural de proteínas como as porinas, que são portas de entrada comuns para certas classes de antibióticos (Davin-Regli, Lavigne e Pagès, 2019).

Além disso, a formação de biofilme, composta por uma comunidade de microrganismos envolta em uma matriz polimérica extracelular (MPE) formada por polissacarídeos, proteínas, lipídios, enzimas e DNA extracelular, constitui um mecanismo importante para a sobrevivência e resistência bacteriana, especialmente em ambientes de alta pressão seletiva, como hospitais e serviços de cuidado à saúde (Maillard e Centeleghe, 2023). Os mecanismos de resistência associados à formação de biofilme foram descritos como aumento da densidade celular, transferência horizontal de genes de resistência, redução do metabolismo bacteriano e presença de células persistentes responsáveis pela reconstrução do biofilme após exposição a agentes antimicrobianos. Assim, promove a persistência de microrganismos em superfícies hospitalares e facilita a transferência de microrganismos resistentes para ambientes com pacientes imunodeprimidos, como Unidades de Tratamento Intensivo (UTIs) (Maillard e Centeleghe, 2023).

## 2.2 Grupo ESKAPE-E

Entre as bactérias com perfil de multirresistência, as que pertencem ao grupo ESKAPE-E englobando espécies Gram-positivas e Gram-negativas, como *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter sp* e *Escherichia coli*, são consideradas os principais patógenos causadores de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) e estão no topo da lista de “Patógenos Prioritários” da OMS devido à severidade das infecções causadas e a necessidade urgente do desenvolvimento de novos antibióticos para combatê-las (Abukhalil *et al.*, 2024).

O que une esses microrganismos é a sua capacidade de sobreviver e colonizar o ambiente hospitalar e causar infecções em indivíduos imunocomprometidos, bem como a ampla gama de resistência antimicrobiana intrínseca a cada membro e sua capacidade de adquirir resistência por meio de mutações ou transferência de genes (Miller e Arias, 2024).

### 2.2.1 *Enterococcus faecium*

As bactérias do gênero *Enterococcus* são Gram-positivas amplamente distribuídas no ambiente e colonizadoras do trato gastrointestinal, reconhecidas tanto por seu papel probiótico e contribuição para a manutenção da microbiota quanto por atuarem como patógenos oportunistas capazes de causar infecções graves, incluindo septicemia, endocardite, infecções do trato urinário e infecções de lesões cirúrgicas (Marekovic et al., 2024; Cairns et al., 2023; Wei et al., 2024). Algumas cepas apresentam resistência a diversos antibióticos, tanto de forma intrínseca quanto adquirida (Cairns et al., 2023).

Dentre as resistências comuns nesse gênero, destaca-se o fato de que *Enterococcus* geralmente são naturalmente resistentes a cefalosporinas, aminoglicosídeos, macrolídeos, clindamicina e trimetoprima-sulfametoazol (Marekovic et al., 2024; Cairns et al., 2023). A resistência a beta-lactâmicos é associada à expressão de Proteínas Ligantes a Penicilina de baixa afinidade (Cairns et al., 2023).

No entanto, os *Enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE) merecem atenção especial devido à sua maior capacidade de causar infecções na corrente sanguínea e altos índices de mortalidade (Cairns et al., 2023; Marekovic et al., 2024). Cepas VRE possuem um índice de mortalidade de 18% em pacientes internados, que aumenta para 57% em infecções que durem mais de 30 dias, e foram responsáveis por cerca de 250 mil mortes em 2019 (Wei et al., 2024).

Essas bactérias possuem nove genes que conferem resistência à vancomicina e glicopeptídeos, no geral: vanA, vanB, vanC, vanD, vanE, vanG, vanL, vanM e vanN. Dentre eles, o gene vanA é o mais comum, conferindo alto nível de resistência tanto à vancomicina quanto à teicoplanina (Cairns et al., 2023; Ahmed e Baptiste, 2018).

Os *Enterococcus* também demonstram grande capacidade de sobrevivência no ambiente hospitalar, devido à sua tolerância ao calor, ao hipoclorito de sódio e a

preparações à base de álcool, o que dificulta o controle de infecções nosocomiais (Cairns *et al.*, 2023).

As duas espécies de maior relevância clínica do gênero são *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*. Embora a resistência a glicopeptídeos, como a vancomicina, possa ocorrer em ambas, ela é predominantemente associada a *E. faecium* (Cairns *et al.*, 2023).

### 2.2.2 *Staphylococcus aureus*

A espécie *Staphylococcus aureus* é a de maior relevância clínica dentro do gênero *Staphylococcus*, sendo um colonizador comum da pele e do trato respiratório superior de aproximadamente um terço da população mundial (Touaitia *et al.*, 2025; Lee *et al.*, 2018). Trata-se de um patógeno oportunista, capaz de causar infecções quando as barreiras mucocutâneas ou os mecanismos imunológicos do hospedeiro estão comprometidos (Touaitia *et al.*, 2025).

Uma das características mais relevantes de *S. aureus* é sua capacidade de produzir uma ampla gama de fatores de virulência, tais como toxinas, proteínas de adesão e mecanismos de evasão imunológica, com muitos desses fatores sendo codificados por elementos genéticos móveis, como plasmídeos e transposons (Cheung, Bae e Otto, 2021). Essa diversidade genética resulta em diferentes padrões de infecção e em distintas estratégias de adaptação ao hospedeiro (Cheung, Bae e Otto, 2021).

A resistência dessa espécie ocorre primariamente de maneira adquirida por meio de elementos genéticos móveis como plasmídeos, transposons e cassetes, tal qual o cassette cromossômico Estafilocócico mec (SCCmec) que possui 8 formas diferentes e é responsável por codificar o gene de resistência a meticilina e outros antibióticos (Alghamdi *et al.*, 2023).

Cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) exibem resistência à maioria dos beta-lactâmicos, incluindo as cefalosporinas, por meio de vários mecanismos, incluindo a produção de uma PLP de baixa afinidade codificada pelos genes *mecA* e *mecC*, e a produção de betalactamases (Vittarakis *et al.*, 2024; Touaitia *et al.*, 2025).

Glicopeptídeos como a vancomicina são considerados o principal tratamento para MRSA, porém a transmissão horizontal de plasmídeos contendo os genes de resistência *vanA* e *vanB*, provenientes de cepas de *Enterococcus sp.*, levou ao

preocupante surgimento de cepas resistentes à vancomicina (VRSA) (Chambers e Fowler Jr., 2024; Touaitia *et al.*, 2025). Cepas intermediárias a vancomicina (VISA) desenvolvem métodos alternativos de resistência, como uma produção aumentada de peptidoglicano (Touaitia *et al.*, 2025).

A resistência a aminoglicosídeos dessa espécie ocorre primariamente por meio da produção de EMAs como aminoglicosídeo-acetil transferase, mas mecanismos como a modificação do sítio alvo nos ribossomos e bombas de efluxo também são contribuintes (Touaitia *et al.*, 2025).

Cepas MRSA são capazes de resistir a ação de fluoroquinolonas por meio da modificação de subunidades da enzima topoisomerase IV, causadas por mutações nos genes *grlA* e *gyrA*. Foi observado que concentrações subinibitórias dessa classe de antibióticos podem acelerar o desenvolvimento de resistência (Touaitia *et al.*, 2025).

A resistência a macrolídeos ocorre primariamente por meio da modificação da subunidade 50s do ribossomo bacteriano, via metilação do RNA ribossomal em conjunto com bombas de efluxo e enzimas capazes de fosforilar essas drogas. Proteínas protetoras do ribossomo podem se ligar a antibióticos como as tetraciclinas, diminuindo sua efetividade (Touaitia *et al.*, 2025).

### 2.2.3 *Klebsiella pneumoniae*

*Klebsiella pneumoniae* é uma bactéria Gram-negativa encapsulada sem motilidade, comumente presente no meio ambiente e frequentemente associada com o desenvolvimento de pneumonia em pacientes que sofrem de alcoolismo ou diabetes mellitus. Coloniza tipicamente o trato gastrointestinal, orofaringe e nasofaringe de seres humanos saudáveis (Stojowska-Swedrzynska *et al.*, 2022).

*K. pneumoniae* é intrinsecamente resistente a carbenicilina, ticarcilina e ampicilina devido a produção cromossomal da penicilinase SHV-1 (Braun *et al.*, 2024). Cepas MDR produtoras de beta-lactamases de espectro estendido e carbopenemases estão associados a índices de mortalidade entre 40 e 50% (Stojowska-Swedrzynska *et al.*, 2022). Essa espécie tem capacidade de produzir as 4 classes de beta-lactamases, sendo a carbapenemase produzida por *K. pneumoniae* (KPC) a mais comum da classe A e disseminada por meio de elementos genéticos móveis. A modificação de porinas também está associada à resistência a beta-lactâmicos (Stojowska-Swedrzynska *et al.*, 2022).

*K. pneumoniae* também é capaz de produzir enzimas inativadoras de aminoglicosídeos, bem como modificar sítios de ligação de antibióticos para resistir a ação de tetraciclinas e polimixinas (Stojowska-Swedorzynska *et al.*, 2022). Cepas dessa espécie, a depender dos elementos genéticos móveis a sua disposição, podem ser classificadas em *K. pneumoniae* clássica (cKp) ou *K. pneumoniae* de alta virulência (hvKp), onde ambas são capazes de se tornar multidroga resistente (Wang *et al.*, 2020).

A variante hvKp é mais frequentemente encontrada no continente asiático, e como o nome sugere, se apresenta de maneira mais agressiva que a variante cKp. Podendo infectar indivíduos saudáveis e sem nenhuma comorbidade, bem como infectar múltiplos sítios corpóreos simultaneamente, características incomuns em membros da família enterobacteriaceae (Russo e Marr, 2019). Além disso, causa, como síndrome clínica característica, um abscesso hepático mesmo na falta de doença concomitante no trato biliar do paciente (Russo e Marr, 2019). Também pode causar meningite, abscessos não hepáticos, endoftalmite e fascite necrosante, síndromes normalmente não associadas com infecções por *K. pneumoniae* clássica (Russo e Marr, 2019).

A alta virulência da hvKp se deve a dois grandes e altamente similares plasmídeos, pK2044 e pLVPK, que contém os genes *iuc* (responsável pela produção do sideróforo aerobactina), *peg-344* (um transportador metabólico de função desconhecida) e dos genes *rmp-A* e *rmp-A2* (reguladores que regulam a produção da cápsula) (Russo e Marr, 2019). O patótipo hvKp é mais resistente a fagocitose, atividade neutrofílica e ao sistema complemento, em parte por sua produção aumentada do polissacarídeo capsular, sendo inclusive capaz de sobreviver dentro de fagócitos especializados como os neutrófilos e macrófagos (Stojowska-Swedorzynska *et al.*, 2022; Russo e Marr, 2019). Uma ocorrência preocupante que foi reportada é a transferência de plasmídeos e outros elementos genéticos móveis entre cepas cKp e hvKp, fazendo com que cepas hvKp adquiram a resistência antimicrobiana vista mais frequentemente em cepas cKp, ou que cepas de cKp, muitas vezes já multidroga resistente, adquiram os fatores de virulência presentes nas hvKp (Russo e Marr, 2019).

#### 2.2.4 *Acinetobacter baumannii*

Bactéria Gram-negativa, membro principal do complexo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus*, é um cocobacilo não fermentador obrigatoriamente aeróbico amplamente distribuído no meio ambiente, capaz de causar severas infecções oportunistas (Scoffone et al., 2025; Boutzoukas e Doi, 2025). Possui uma distinta capacidade de sobreviver em ambientes adversos, como hospitais e outros serviços de cuidado à saúde, especialmente em alas de queimaduras e neonatais (Scoffone et al., 2025; Miller e Arias, 2024).

A aparição de cepas resistentes a beta-lactâmicos levou à adoção dos carbapenêmicos como terapia preferencial para infecções por *A. baumannii*, porém seu uso excessivo promoveu o aumento da resistência a essa classe resultando na utilização das polimixinas, apesar de sua nefrotoxicidade, como tratamento para cepas resistentes a carbapenêmicos (Scoffone et al., 2025; Abukhalil et al., 2024). Enquanto cepas resistentes tanto a polimixinas quanto a tigeciclina são classificadas como pan-drogas resistentes e de tratamento extremamente difícil (Scoffone et al., 2025; Abukhalil et al., 2024).

Os mecanismos de resistência desenvolvidos por *A. baumannii* são numerosos e incluem degradação enzimática de antibióticos, modificação de sítio alvo, alteração da permeabilidade da membrana, bombas de efluxo e formação de biofilme (Scoffone et al., 2025).

*A. baumannii* é capaz de produzir várias enzimas inativadoras de antibióticos. Dentre elas, é capaz de produzir as 4 classes de beta-lactamases o que lhe confere resistência a penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos (Scoffone et al., 2025; Van Duijkeren et al., 2018).

Além dos mecanismos enzimáticos, a modificação de sítios-alvo é um importante mecanismo para resistência em frente a beta-lactâmicos (por meio da modificação em genes que expressam as Proteínas Ligantes a Penicilina), aminoglicosídeos (por meio da modificação do RNA ribossomal que compõe a subunidade 30s dos ribossomos) e colistina (por meio da adição de moléculas ao lipídio A) (Scoffone et al., 2025; Novović e Jovčić, 2023). Cepas de *A.baumannii* também podem perder completamente a expressão de lipídio A, eliminando por completo o sítio de ligação da colistina (Novović e Jovčić, 2023).

Mecanismos que alteram a permeabilidade da membrana levam principalmente a resistência contra antibióticos hidrofílicos como beta-lactâmicos, aminoglicosídeos e tigeciclina, com outro fator agravante para esse tipo de resistência sendo a grossa cápsula rica em polissacarídeos presente na estrutura da *A. baumannii* (Venkateswaran *et al.*, 2023).

As bombas de efluxo expressadas por esse microrganismo se dividem em duas famílias, Divisão Celular de Nodulação de Resistência e Extrusão Multi-Antimicrobiana e de Compostos Tóxicos, que podem ser super-expressas caso haja modificação nos seus genes regulatórios, resultando em resistência (Scoffone *et al.*, 2025).

A formação de biofilme torna *A. baumannii* notavelmente capaz de colonizar superfícies abióticas e dispositivos médicos, o que justifica a predominância dessa bactéria em pacientes imunocomprometidos em unidades de tratamento intensivo, sendo reconhecido por sua capacidade de causar pneumonias associadas à respiração mecânica, infecções de corrente sanguínea e trato urinário além de casos de meningite secundária (Boutzoukas e Doi, 2025).

A alta plasticidade genética apresentada por *A. baumannii* contribui para o amplo desenvolvimento de resistência da bactéria, permitindo que a bactéria acumule mutações e integre facilmente ao seu DNA elementos genéticos móveis como plasmídeos, ilhas de resistência e sequências de inserção (Scoffone *et al.*, 2025).

#### *2.2.5 Pseudomonas aeruginosa*

Bactéria Gram-negativa distribuída de maneira cosmopolita na natureza e colonizadora predominante de ambientes hospitalares, onde, assim como o resto das bactérias ESKAPE-E, tem um papel de peso como causadora de infecções nosocomiais (Elfadadny *et al.*, 2024; Hu e Chua, 2025).

*P. aeruginosa* é classicamente associada com infecções do trato respiratório, particularmente em indivíduos submetidos a respiração assistida mecanicamente por longos períodos de tempo, como também acometidos por doenças inflamatórias crônicas do trato respiratório, como asma e principalmente fibrose cística (Alqasmi, 2024; Venkateswaran *et al.*, 2023). Além disso, essa bactéria é capaz de causar infecção em diversos sítios corpóreos, como a pele, particularmente em vítimas de

queimaduras, ouvidos, trato urinário e corrente sanguínea (Venkateswaran *et al.*, 2023).

Esse microrganismo produz uma série de fatores de virulência que possibilitam a colonização dos tecidos do hospedeiro (Venkateswaran *et al.*, 2023). Um desses fatores é a produção de alginato, um exopolissacarídeo secretado pelo microrganismo durante infecções respiratórias crônicas, que facilita a aderência e age como barreira em frente a agentes antimicrobianos, a produção de lipases e fosfolipases, que dissolvem moléculas lipídicas das membranas celulares do hospedeiro e facilitam a invasão bacteriana, e a produção de pigmentos como piocianina e pioverdina, que causam estresse oxidativo nas células do hospedeiro e inibem a fagocitose (Elfadadny *et al.*, 2024; Venkateswaran *et al.*, 2023; Miller e Arias, 2024).

Similarmente a *A. baumannii*, *P. aeruginosa* possui uma capacidade notável de formação de biofilme, tanto em superfícies abióticas como catéteres e implantes médicos, desempenhando um papel importante na transmissão do microrganismo para pacientes suscetíveis, quanto em tecidos do paciente, especialmente importante nas infecções que acometem as vias respiratórias inferiores de pacientes com fibrose cística (Hu e Chua, 2025; Sendra *et al.*, 2024).

Outros mecanismos de resistência apresentados por *P. aeruginosa* incluem a super expressão de bombas de efluxo, particularmente da família RND (*Resistance Nodulation Division*) que é composta por dois mecanismos chave, *multidrug efflux* (Mex) e *outer membrane porin* (Omr), que trabalham em sinergia para expulsão de compostos tóxicos da bactéria do seu citoplasma e são responsáveis pela resistência a uma ampla gama de antibióticos, como beta-lactâmicos, cefalosporinas, ticarcilina, macrolídeos, fluoroquinolonas, entre outros (Elfadadny *et al.*, 2024; Hu e Chua, 2025).

Outro fator de resistência intrínseco a essa espécie é sua membrana com uma permeabilidade excepcionalmente baixa. Bactérias Gram-negativas em geral possuem maior resistência antimicrobiana devido a sua parede celular mais complexa, no entanto, em comparação a outras bactérias dessa classe, *P. aeruginosa* apresenta uma permeabilidade de membrana 12 a 100 vezes menor (Elfadadny *et al.*, 2024).

Cepas dessa espécie também expressam uma variedade de enzimas inativadoras de antibióticos, como beta-lactamases de classe C, de espectro

estendido e metalobetalactamases capazes de neutralizar a maioria dos beta-lactâmicos. A resistência a aminoglicosídeos também é mediada, em parte, pela produção de enzimas específicas para essa classe, como aminoglicosídeo fosfotransferases, aminoglicosídeo acetiltransferases e aminoglicosídeo nucleotídeo-transferases (Venkateswaran *et al.*, 2023; Miller e Arias, 2024).

#### 2.2.6 *Enterobacter spp.*

Gênero de bactérias Gram-negativas móveis anaeróbias facultativas pertencentes à família *Enterobacteriaceae* (Miller e Arias, 2024). São comensais naturais do trato gastrointestinal humano, mas certas espécies, particularmente *E. cloacae* e *E. aerogenes*, são capazes de causar infecções em pacientes imunocomprometidos como meningite, pneumonia, septicemia e infecções no trato urinário e de sítios cirúrgicos (Venkateswaran *et al.*, 2023).

Os mecanismos de virulência expressos pelo gênero incluem a produção de endotoxinas como hemolisinas, e, adicionalmente, espécies do gênero expressam o mecanismo de secreção tipo 6 (*Type Six Secretion System* ou TSSS), capaz de injetar proteínas efetoras citotóxicas diretamente no citoplasma das células do hospedeiro (Venkateswaran *et al.*, 2023).

Embora espécies do gênero variem em seus mecanismos de resistência, elas compartilham a predominância da produção de beta-lactamases, especialmente a cefalosporinase AmpC, expressa intrinsecamente em baixos níveis, porém passível de superexpressão diante de concentrações subletais de antibióticos ou mutações (Davin-Regli, Lavigne e Pagès, 2019). Cuja amplificação está associada a cerca de 50% dos casos de resistência às cefalosporinas de terceira geração nesse grupo (Davin-Regli, Lavigne e Pagès, 2019).

Resistência em frente a outras subclasses de beta-lactâmicos é conferida por enzimas das famílias TEM, SHV e CTX-M que são beta-lactamases de espectro estendido, enquanto a resistência a carbapenêmicos é conferida por carbapenemases como a KPC e OXA-48 (Sakalauskiene *et al.*, 2024; Davin-Regli, Lavigne e Pagès, 2019).

Um mecanismo de resistência importante para *Enterobacter spp.* é a variedade de porinas que são expressas pelas bactérias e seu complexo sistema de modulação, com 5 tipos de porinas identificadas (Omp 35, Omp36, Omp37, LamB e PhoE) (Davin-Regli, Pagès e Vergalli., 2024; Sakalauskiene *et al.*, 2024).

Salienta-se que a produção dessas porinas pode ser alternada, aumentada ou diminuída após a exposição de antibióticos, conferindo resistência a beta-lactâmicos e quinolonas e que modificações na estrutura também podem acontecer e diminuir a susceptibilidade da bactéria aos antimicrobianos (Davin-Regli, Pagès e Vergalli., 2024; Sakalauskiene et al., 2024).

Mutações nos sítios de ligação dos antibióticos contribuem para resistência frente a polimixinas, por meio de alterações nos lipopolissacarídeos da parede celular, e das quinolonas, por meio de alterações nos aminoácidos presentes nas regiões de determinação da resistência a quinolonas das enzimas alvo (Sakalauskiene et al., 2024).

### 2.2.7 *Escherichia coli*

Embora seja uma bactéria comensal do trato gastrointestinal humano reconhecida por sua atividade reguladora da microbiota intestinal e convivência harmoniosa com o hospedeiro, *E. coli* apresenta diversas cepas capazes de causar infecções tanto intestinais quanto em outros sítios corpóreos (Nasrollahian, 2024). As cepas patogênicas de *E. coli* são classificadas em diferentes patotipos, incluindo as produtoras de toxina Shiga (STEC), enterohemorrágicas (EHEC), enteropatogênicas (EPEC), enteroaggregativas (EAEC), difusamente aderentes (DAEC), enterotoxigênicas (ETEC), enteroinvasivas (EIEC) e aderente-invasivas (AIEC) (Nasrollahian, 2024).

As complicações médicas associadas com infecção por esse patógeno são diversas e potencialmente severas, tais como meningite, disenteria, septicemia e a Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU) (Nasrollahian, 2024; Joseph et al., 2019). SHU acomete principalmente crianças e é causada pelas toxinas produzidas por cepas STEC, particularmente o sorotipo O157:H7, que penetram no epitélio intestinal e liberam sua toxina causando morte celular por inibição da atividade ribossômica (Joseph et al., 2019). Em sequência, a toxina atinge a corrente sanguínea, onde consegue se infiltrar em células do endotélio vascular e desencadeia uma série de eventos que aumentam drasticamente as chances de trombose, seja por lise dessas células e exposição do colágeno e fator tecidual vascular, ou aumento da expressão de fatores da coagulação (Joseph et al., 2019).

*E. coli* é o principal responsável por infecções do trato urinário (ITU) globalmente, estimando-se que cerca de 75% dos casos não complicados e mais de 50% dos casos complicados sejam causados por essa bactéria (Zhou *et al.*, 2023).

Os mecanismos que conferem resistência a *E. coli* são similares aos presentes em outros membros do grupo ESKAPE-E, incluindo produção de enzimas inativadoras de antibióticos, principalmente as beta-lactamases, incluindo as de espectro estendido, conferindo resistência também a outras classes como fluoroquinolonas e sulfonamidas, e carbapenemases. Carbapenemases são especialmente relevantes, pois carbapenêmicos são normalmente escolhidos para o tratamento de cepas MDR de *E. coli* (Nasrollahian, 2024). Outras enzimas como as beta-lactamases AmpC são normalmente expressas em baixas concentrações, mas podem ter sua produção aumentada em reação a certos beta-lactâmicos (Nasrollahian, 2024).

A modificação de sítios de ligação, particularmente no ribossomo bacteriano, confere resistência a macrolídeos e aminoglicosídeos a cepas de *E.coli* que apresentam esse mecanismo. A superepressão de bombas de efluxo, bem como a modificação de porinas também levam a resistência a diversas classes de antibióticos por meio da expulsão do citoplasma e diminuição da entrada dos fármacos (Nasrollahian, 2024).

### 2.3 Óleos essenciais

Os óleos essenciais (OEs) são misturas complexas de metabólitos secundários produzidos por plantas e armazenados em estruturas especializadas, desempenham funções ecológicas essenciais relacionadas à defesa contra herbívoros, proteção frente a microrganismos e atração de polinizadores (Camina *et al.*, 2023). A composição química varia amplamente em função de fatores genéticos, condições ambientais, parte da planta empregada e estágio de desenvolvimento, resultando em perfis químicos altamente diversificados e bioativos (Camina *et al.*, 2023).

Os principais constituintes dos óleos essenciais pertencem às classes dos monoterpenos (C10) e sesquiterpenos (C15), além de fenóis, aldeídos e ésteres (De Sousa *et al.*, 2023). A variabilidade desses compostos confere aos OEs propriedades biológicas amplamente estudadas, como atividade antimicrobiana,

anti-inflamatória, antioxidante, analgésica e citotóxica, tornando-os potenciais candidatos para uso nas áreas farmacêutica, cosmética e alimentícia (De Sousa *et al.*, 2023).

A atividade antimicrobiana dos OEs tem recebido especial atenção diante do aumento global da resistência bacteriana, uma vez que seus constituintes hidrofóbicos promovem desestabilização da membrana citoplasmática, alteração da permeabilidade, dissipação do gradiente de prótons, vazamento de conteúdo intracelular e inibição de sistemas enzimáticos vitais (Khwaza e Aderigbigbe, 2025; Kong *et al.*, 2024). Esses mecanismos foram observados em monoterpenos como alfa-pineno, limoneno, linalol, carvacrol e timol, frequentemente associados à capacidade dos OEs de atuar contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, inclusive patógenos multirresistentes (Khwaza e Aderigbigbe, 2025; Kong *et al.*, 2024).

### 2.3.1 *Schinus terebinthifolius*

*Schinus terebinthifolius*, conhecida como aroeira-vermelha ou pimenta-rosa, é uma espécie nativa da América do Sul amplamente utilizada na medicina tradicional por suas propriedades anti-inflamatórias, cicatrizantes e antimicrobianas (Oliveira *et al.*, 2024). A composição química do óleo essencial de *S. terebinthifolius* é marcada majoritariamente por monoterpenos e sesquiterpenos, especialmente alfa-pineno, beta-mirceno, limoneno, alfa-felandreno e beta-felandreno (Oliveira *et al.*, 2024; Ribeiro *et al.*, 2025). Esses compostos são associados à desestabilização de membranas bacterianas, bem como danos ao seu DNA, disruptão de vias metabólicas e indução de estresse oxidativo nas bactérias (Khwaza e Aderigbigbe, 2025; Tang *et al.*, 2022).

Nos últimos anos, pesquisas têm reforçado o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *S. terebinthifolius*, demonstrando ação relevante contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo espécies resistentes, como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Essa atividade antimicrobiana tem sido relacionada à capacidade dos monoterpenos de interagir com a membrana citoplasmática, causando aumento de permeabilidade, perda de

constituintes celulares e morte bacteriana (Costa da Silva *et al.*, 2023; Cole *et al.*, 2014).

Além da atividade antibacteriana direta, há evidências de que o óleo essencial apresenta atividade sinérgica com antibióticos, reduzindo a concentração inibitória mínima (MIC) de fármacos convencionais e potencializando seu efeito contra cepas multirresistentes (Costa da Silva *et al.*, 2023). Do mesmo modo, estudos recentes exploram seu uso em sistemas alimentares e produtos naturais, avaliando propriedades antioxidantes, efeito conservante e aplicações em embalagens ativas (Ribeiro *et al.*, 2025).

A atividade antioxidante e anti-inflamatória de *S. terebinthifolius* também tem sido objeto de pesquisa, sendo atribuída à presença de terpenos e compostos fenólicos capazes de neutralizar radicais livres e modular vias inflamatórias (Oliveira *et al.*, 2024). A diversidade de aplicações terapêuticas reforça o valor farmacológico da espécie e motiva investigações sobre segurança toxicológica, formulações e potenciais usos clínicos.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* frente a patógenos hospitalares pertencentes ao grupo ESKAPE-E.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Realizar a caracterização química do óleo essencial;
- Determinar os valores de Concentração Mínima Inibitória e Concentração Mínima Bactericida;
- Determinar o tempo de morte da bactéria que apresente os menores valores de CMI e CMB

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Obtenção do óleo essencial e caracterização química por GC-MS e GC-FID

O óleo essencial dos frutos da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius*) foi adquirido comercialmente por meio da empresa Terra Flor Aromaterapia, lote 23163. Inicialmente, para a amostra do óleo essencial foi preparada uma solução em hexano com alto grau de pureza (Sigma Aldrich Reagent Plus®, pureza ≥99%). Para identificação dos compostos presentes na amostra do óleo essencial, foram retiradas alíquotas de 1 µL dessa solução e submetidas a análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e cromatografia gasosa com detector de ionização em chamas, para a quantificação.

Foram seguidas as condições de análise apresentadas por Santos *et al.* (2012), com adaptações incluindo o modelo do equipamento, o fluxo do gás de arraste, o programa de temperatura do forno e o modo de injeção. O equipamento utilizado nas análises via GC-MS é do tipo quadrupolo Agilent, modelo 5977 B, equipado com uma coluna capilar de sílica fundida HP-5ms não polar (Agilent J&W) (30 m × 0,25 mm i. d.; espessura do filme 0,25 mm). O gás hélio foi utilizado para arraste, contendo uma taxa de fluxo total de 0,225 L/min. Foram mantidas as seguintes temperaturas: do injetor (250 °C) e do detector (280 °C). A temperatura do forno foi programada para iniciar em 40 °C, manter durante 1 min e, em sequência, aumentar para 230 °C a uma taxa de 4 °C/min. Sendo esta última temperatura mantida por 5 minutos. As alíquotas de 1 µL da amostra foram introduzidas individualmente na coluna com o injetor, utilizando um split de 1:200. O potencial de ionização foi de 70 eV, o intervalo de varredura foi de m/z 40 a 550, com uma taxa de 0,5 varredura por segundo. Nas mesmas condições também foi injetado um padrão de hidrocarbonetos C9-C26.

Para identificar a composição do óleo essencial, foram utilizados os tempos de retenção dos compostos das amostras e dos presentes no padrão de hidrocarbonetos para o cálculo do índice de retenção de Kratz (Van Den Dool e Kratz, 1963), comparando-se os índices calculados para cada composto com os respectivos valores na literatura (Adams, 2007). Além disso, foi avaliada a

similaridade dos espectros de massa obtidos experimentalmente com aqueles presentes na literatura (Adams, 2007) e em bibliotecas (NIST, Wiley).

Em relação à quantidade relativa dos compostos identificados, a mesma foi obtida utilizando a cromatografia gasosa com detector de ionização em chamas. O equipamento utilizado nas análises foi o TRACE GC Ultra (Thermo Scientific), equipado com uma coluna DB-5 não-polar (60 m × 0,25 mm i. d.; espessura do filme 0,25 mm) e utilizando as mesmas condições de análises via GC-MS. A quantificação foi feita em triplicata, calculando-se uma média para os teores de cada composto, seguidos dos seus respectivos desvios padrão, a partir da área relativa dos picos nos cromatogramas, sendo essa área associada à composição relativa dos compostos presentes na amostra de óleo essencial.

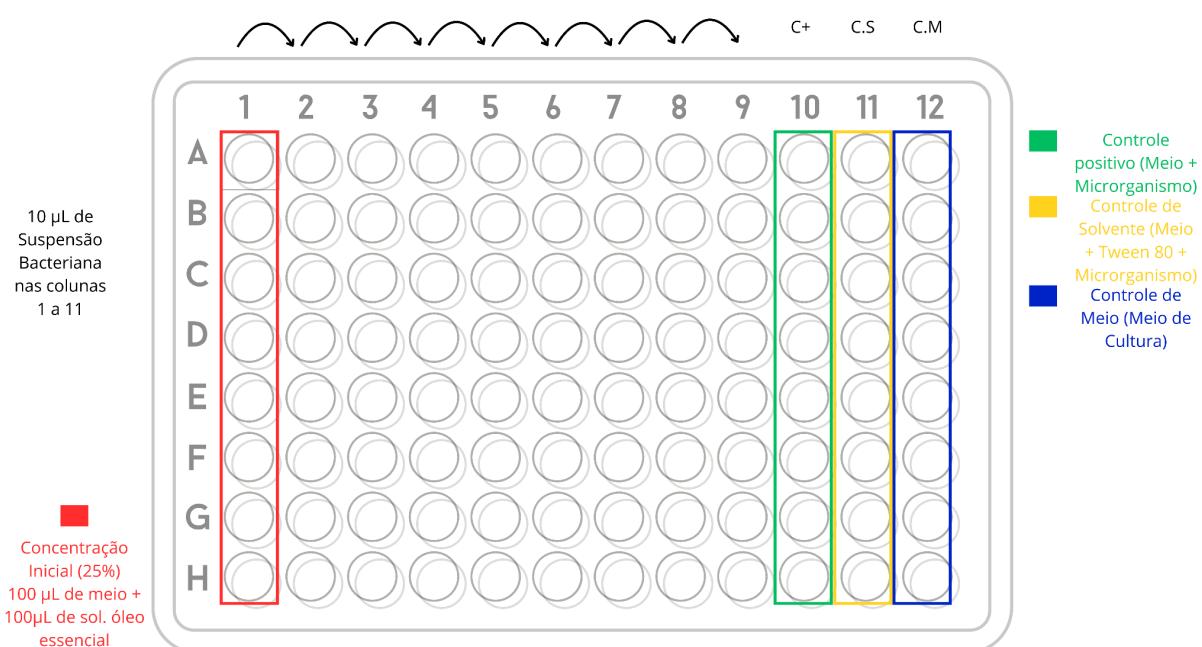
#### 4.2 Determinação dos valores de Concentração Mínima Inibitória e Concentração Mínima Bactericida

A atividade antibacteriana do óleo essencial foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, conforme o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), documento M07 (CLSI, 2024) com a adição do solvente polissorbato 80 (Tween 80) a 10% para diluição do óleo em meio de cultura. Foram utilizadas as cepas: *Staphylococcus aureus* UFPEDA 02, *Enterococcus faecalis* UFPEDA 138, *Enterobacter aerogenes* UFPEDA 348, *Klebsiella pneumoniae* UFPEDA 396, *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416, *Acinetobacter baumannii* UFPEDA 1025B e *Escherichia coli* UFPEDA 224, adquiridas por meio da Coleção de Microrganismos do Departamento de Antibióticos da UFPE (UFPEDA).

As cepas foram reativadas em caldo Nutriente, exceto *E. faecalis*, que foi reativada em caldo Brain Heart Infusion (BHI). As suspensões microbianas foram padronizadas em espectrofotômetro a 625 nm, obtendo densidade óptica entre 0,08 e 0,13 ( $10^8$  UFC/mL) e posteriormente diluídas para  $10^6$  UFC/mL. O óleo essencial foi dissolvido em Tween 80 a 10% e passou por diluição seriada em caldo Mueller-Hinton (MH) partindo da concentração inicial de 219 mg/mL e chegando na concentração final de 0,85 mg/mL nos poços da microplaca. As suspensões bacterianas foram adicionadas ao caldo Mueller-Hinton (MH) resultando em concentração final de  $1 \times 10^5$  UFC/mL.

As microplacas foram incubadas a 37 °C por 24 h, protegidas da luz. A CMI (Concentração Mínima Inibitória) foi avaliada observando o crescimento nos poços da microplaca e a CMB (Concentração Mínima Bactericida) foi avaliada por meio do semeio do conteúdo dos poços a partir do primeiro poço em que o crescimento esteve visivelmente reduzido ou ausente em meio ágar Mueller-Hinton e avaliando o crescimento após incubação por 24h em estufa a 37°C. Os ensaios foram realizados em duplicata, e os resultados expressos em mg/mL.

Figura 1. Ensaio de Determinação da Concentração Inibitória Mínima.



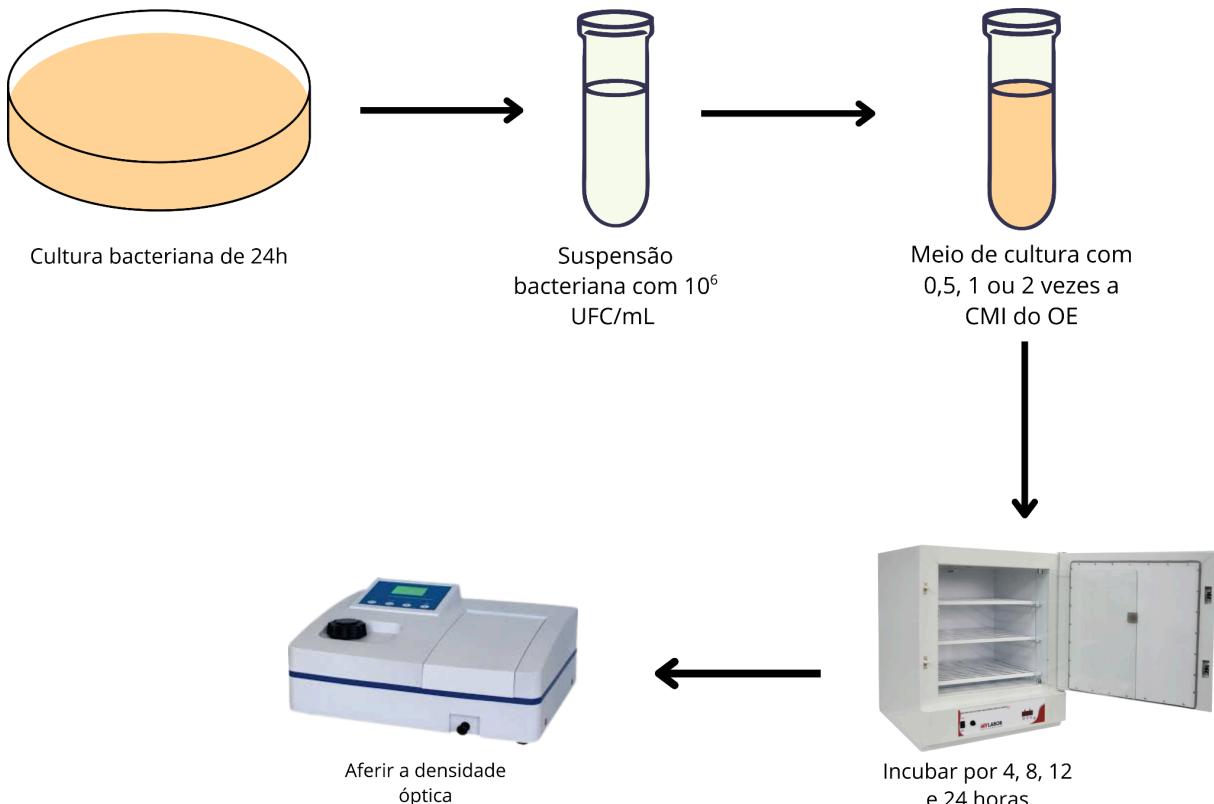
Fonte: Autor (2025)

#### 4.3 Determinação do tempo de morte

A avaliação do tempo de morte bacteriana foi realizada com *E. coli* por apresentar os menores valores de CMI e CMB conforme metodologia utilizada por Israyilova e colaboradores (2022) com a adaptação do uso de tubos de ensaio visando facilitar a realização do experimento. O óleo essencial foi diluído em tubos de ensaio contendo caldo Mueller-Hinton para atingir concentrações de 0,5×, 1× e 2× do valor da CMI, em seguida, os tubos foram inoculados com a suspensão bacteriana padronizada na concentração de 10<sup>5</sup> UFC/mL e as amostras foram incubadas em estufa a 37°C. Em intervalos de 0, 4, 8, 12 e 24 horas, uma alíquota

foi retirada para medição da densidade óptica em espectrofotômetro a 625 nm, comparando-se com o controle de microrganismos nos mesmos intervalos. Este ensaio foi realizado em triplicata.

Figura 2. Metodologia do ensaio de Time-Kill



Fonte: Autor (2025)

#### 4.4 Análises Estatísticas

Os resultados do time-kill foram avaliados por meio de estatística descritiva, usando os parâmetros de média e desvio padrão. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão calculados a partir de 3 repetições independentes. A média foi utilizada para representar o valor central das observações, enquanto o desvio padrão foi empregado como medida de dispersão dos dados em relação à média. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software OriginPro 2025b e os resultados são apresentados em tabelas.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição química do óleo essencial

Os resultados da caracterização química do óleo foram apresentados na tabela 1. Foram detectados 22 compostos no óleo essencial, sendo 14 destes foram identificados (correspondentes a 90,05% do OE), e 8 não foram identificados (correspondentes aos 9,95% do OE). Dos 14 compostos identificados, 9 são monoterpenos, classe que compõem 84% do óleo, e os demais pertencem à classe dos sesquiterpenos. Monoterpenos são uma classe de compostos químicos tipicamente associados com atividade antibacteriana, particularmente por disruptão de membranas celulares, mas também, por mecanismos como inibição de bombas de efluxo, aumento do estresse oxidativo nas bactérias, disruptão do metabolismo energético entre outros mecanismos.

Tabela 1. Caracterização Química do Óleo Essencial de *S. terebinthifolius*

Composto	Conteúdo médio (%)
delta-3-Careno	31,42
Silvestreno	14,83
alfa-Pineno	13,91
alfa-Felandreno	13,21
Terpinoleno	4,29
Mirceno	3,35
p-Cimeno	1,93
Sabineno	1,06
Cadina-1(6),4-dieno	0,45
alfa-trans-Bergamoteno	>0,01
alfa-Humuleno	>0,01
delta-Cadineno	>0,01
Cariofileno	>0,01
beta-Pineno	>0,01

Fonte: Autor (2025)

A caracterização química do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* evidenciou um perfil atípico, com uma elevada concentração de delta-3-careno (31,42%) e silvestreno (14,83%), além quantidades relevantes de alfa-pineno (13,91%), alfa-felandreno (13,21%), terpinoleno (4,29%) e mirceno (3,35%). Esse perfil atípico deve ser considerado na interpretação dos resultados de CMI e CMB, uma vez que a atividade antimicrobiana geralmente decorre da ação conjunta desses compostos, e não de seus efeitos isolados.

Oliveira *et al.* (2024) caracterizaram a composição química do óleo essencial extraído das folhas, frutos e galhos de *Schinus terebinthifolius* e avaliaram sua atividade frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. A análise química revelou predominância de beta-pineno (43,34%), alfa-pineno (17,16%) e germacreno D (15,78%) nos frutos; germacreno D (20,41%), cariofileno (11,73%) e alfa-copaeno (5,73%) nos galhos; e gama-gurjuneno (16,85%), cariofileno (15,97%) e germacreno D (12,04%) nas folhas. As CMIs obtidas para *S. aureus* foram de 1,25 mg/mL (folhas), 10 mg/mL (frutos) e 2,5 mg/mL (galhos); para *E. coli*, de 0,62 mg/mL, 10 mg/mL e 20 mg/mL, respectivamente; e, para *P. aeruginosa*, de 2,5 mg/mL, 5 mg/mL e 20 mg/mL.

Em outro estudo, Ramos *et al.* (2023) identificaram mirceno (28,2%), alfa-pineno (20,2%) e germacreno D (15,3%) como principais componentes do óleo essencial da espécie, cuja atividade antimicrobiana resultou em CMI de 256,9 mg/mL frente a *S. aureus*, enquanto *E. coli* não apresentou sensibilidade ao óleo. A variação em composição química resulta da interação entre a planta e diversos fatores bióticos, como a exposição a predadores e microrganismos, e abióticos, como clima e umidade (Mansinhos *et al.*, 2024; Guimarães *et al.*, 2023). Essa variação química condiciona não apenas a intensidade, mas também o espectro de atividade antimicrobiana.

## 5.2 DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE CMI E CMB

No teste de microdiluição em caldo, o óleo essencial apresentou atividade contra todos os microrganismos testados, sendo a concentração de inibição a mesma correspondente a concentração bactericida. A menor concentração mínima inibitória (3,4 mg/mL) foi observada frente à *Escherichia coli*, enquanto as bactérias

mais resistentes foram *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*, tiveram valores de CMI e CMB de 109,5 mg/mL. Os resultados são apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CMI) e Concentração Bactericida Mínima (CMB) do Óleo essencial de *S. terebinthifolius* frente a bactérias do grupo ESKAPE-E

Bactéria	CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>	109.5	109.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	109.5	109.5
<i>Acinetobacter baumannii</i>	13.6	13.6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	27.3	27.3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.8	6.8
<i>Escherichia coli</i>	3.4	3.4
<i>Enterococcus faecalis</i>	6.8	6.8

Fonte: Autor (2025)

O padrão de atividade apresentado difere da literatura, que aponta Gram-positivas como mais sensíveis à ação de OEs devido a sua parede celular menos complexa, composta por uma grossa camada de peptidoglicano, e mais suscetível à penetração do óleo em comparação a Gram-negativas (Ramos *et al.*, 2023; Serag, Daadeer, Elfayoumy, 2023; Dannenberg *et al.*, 2019).

A maior atividade frente a Gram-negativas pode estar relacionada à predominância de delta-3-careno, monoterpeno cujo mecanismo de ação em frente a *Brochothrix termosphacta* (cepa ACCC 03,870) e *Pseudomonas fluorescens* (cepa ATCC 13,525) foi previamente estudado, verificando-se danos a membrana celular e DNA bacteriano, além de interferência no metabolismo proteico e energético (Shu *et al.*, 2019). O mecanismo de ação do delta-3-careno foi estudado frente a *Pseudomonas lundensis* (cepa ATCC 49,968) e foi associada a três proteínas chaves que participam da síntese da parede bacteriana, transporte de moléculas hidrofóbicas e síntese de Adenosina Tri-Fosfato (Tang *et al.*, 2021).

Em outro estudo realizado pelos mesmos autores foi analisado mecanismo de ação do delta-3-careno frente a *Pseudomonas fragi* (cepa CGMCC 1.3349), sendo

verificados danos a membrana celular, aumento do estresse oxidativo, desordenação do metabolismo de aminoácidos e bloqueio do metabolismo energético (Tang *et al.*, 2022). A variedade de mecanismos que o delta-3-careno apresenta mostra um grande potencial como composto antimicrobiano e o valida como responsável pela atividade mostrada pelo óleo essencial de *S. terebinthifolius*.

A ação frente a *Pseudomonas* pode estar relacionada a presença do Silvestreno, o qual também demonstrou atividade contra *Pseudomonas aeruginosa* (cepa PAO1) no estudo realizado por Fekry *et al.*, 2022 podendo ser observada inibição do crescimento bacteriano na concentração de 91 mg/mL e a inibição de fatores de virulência do microrganismo mesmo na concentração de 9,1 mg/mL sendo capaz de reduzir a produção de piocianina em até 88% e de protease em até 100% (Fekry *et al.*, 2022). O óleo essencial de *Prangos trifida* presente no norte da Itália e rico em silvestreno apresentou atividade contra as Gram-positivas *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* (CMI's de 0,2 mg/mL e 0,12 mg/mL respectivamente) (Di Napoli *et al.*, 2023).

Alfa-pineno é um dos monoterpenos mais bem estudados em relação a sua atividade biológica (Allenspatch e Steuer, 2021). O composto teve sua atividade antimicrobiana analisada isoladamente, por Wei *et al.* (2025), frente a 33 cepas multidroga resistentes de *Acinetobacter baumannii*, apresentando valores de CMI entre 0,078 $\mu$ L/mL e 1,25 $\mu$ L/mL. Alfa-pineno também foi relatado como composto majoritário de diversos óleos essenciais com ação antibacteriana (Galovičová *et al.* 2023; Mirkovic *et al.* 2025). Galovičová *et al.* 2023, reportou que o óleo essencial de *Cupressus sempervirens* tem como compostos majoritários o alfa-pineno (40,5%) e delta-3-careno (24,4%) e apresentou atividade contra as bactérias *Yersinia enterocolitica* (CMI de 99,91 $\mu$ L/mL), *Salmonella enterica* (CMI de 82,87 $\mu$ L/mL), *Bacillus subtilis* (CMI de 397,64 $\mu$ L/mL) *P. aeruginosa* (CMI de 401,67 $\mu$ L/mL), *S. aureus* (CMI de 413,93 $\mu$ L/mL) e *E. faecalis* (CMI de 413,93 $\mu$ L/mL).

Enquanto Melo et al. (2014) reportaram ausência de atividade antimicrobiana para um óleo de *S. terebinthifolius* rico em delta-3-careno e alfa-pineno quando testado por disco-difusão, os resultados obtidos neste estudo por microdiluição revelaram efeito bactericida considerável, demonstrando a influência do método de avaliação no estudo de compostos hidrofóbicos, como reportado por Sokovic et al.

(2010).

Dalli *et al.* (2021) investigaram a atividade de um óleo essencial de *Nigella sativa* rico em alfa-felandreno (30,54%) frente a isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (CMI de 3 µL/mL e CMB de 5 µL/mL), *Escherichia coli* (CMI e CMB de 20 µL/mL), *Pseudomonas aeruginosa* (CMI de 20 µL/mL e CMB de 30 µL/mL) e *Acinetobacter baumannii* (CMI e CMB de 20 µL/mL). De maneira semelhante, Espinosa-Espinosa *et al.* (2023), avaliaram um óleo essencial de *Bursera schlechtendalii*, também rico em alfa-felandreno (31,1%), que demonstrou atividade frente a *E. coli* isolada clinicamente, com CMI de 0,25 mg/mL e CMB de 0,5 mg/mL.

Apesar desses achados, não foram identificados estudos que avaliem isoladamente o potencial antimicrobiano do alfa-felandreno ou elucidem seu mecanismo de ação contra bactérias. No entanto, a maior efetividade do óleo estudado por Espinosa-Espinosa *et al.* (2023), em relação ao óleo analisado no presente estudo, sugere que uma concentração maior de alfa-felandreno possa estar relacionada a uma maior atividade frente a Gram-negativos como *E.coli*.

Considerando que os quatro principais compostos majoritários do óleo avaliado nesta pesquisa demonstraram atividade antibacteriana frente a Gram-negativas e Gram-positivas, seja isoladamente ou como componente majoritário de óleos essenciais, é possível afirmar que a sinergia entre esses compostos é responsável pela atividade comparativamente alta contra Gram-negativas, devido a desestabilização da parede celular, interferência no metabolismo e danos ao genoma bacteriano.

Embora em menor quantidade, os compostos terpinoleno e mirceno também já foram previamente associados à atividade antibacteriana. Terpinoleno não apresentou atividade antibacteriana frente a *S. aureus* em um estudo feito por Scherf *et al.* (2020), porém diminuiu a CMI da oxacilina em frente a uma cepa de *S. aureus* portadora de beta-lactamase, indicando um atividade inibidora da enzima. Mirceno foi relatado como componente principal, ainda que em pequena quantidade (2,16%), do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) por Mráz *et al* (2025), que obteve os melhores valores de CMI contra *E. coli* e *S. aureus* (128 µg/mL para ambos os

microrganismos).

Em relação a inibição de formação de biofilmes, Peng *et al* (2018) avaliaram a atividade antimicrobiana do delta-3-careno frente a *S. aureus* cepa ATCC 25923. Foi determinada uma CMI de 10,39 mg/mL, com o composto sendo capaz de inibir a formação de biofilme em 80% mesmo em um quarto dessa concentração. Não somente, o óleo essencial de *Carum carvi*, rico em silvestreno, foi capaz de inibir a produção de biofilme, um importante mecanismo de resistência para *P. aeruginosa*, em até 73% e investigação por meio de PCR em tempo real revelou que o óleo levou a uma diminuição da expressão de genes essenciais para o mecanismo de “Quorum-sensing” responsável pela formação de biofilme (Fekry *et al.*, 2022). Ainda, o alfa-pineno teve sua atividade antibiofilme estudada frente a *A. baumannii*, sendo comprovado que o alfa-pineno diminui a expressão dos genes relacionados à formação de biofilme na bactéria, como csuAB, ompA, bap e bfmR (Wei *et al.*, 2025).

Considerando que o biofilme confere tolerância aumentada a antibióticos e antissépticos, contribuindo substancialmente para o perfil de resistência robusto de diversas bactérias do grupo ESKAPE-E, a atividade antibiofilme demonstrada pelos três principais compostos do óleo reforça seu potencial biotecnológico. Esses resultados evidenciam a necessidade de investigar sistematicamente o quimiotipo de *S. terebinthifolius* rico nesses monoterpenos, especialmente quanto à sua capacidade de impedir a formação e maturação de biofilmes em patógenos multirresistentes.

### 5.3 DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE MORTE

A avaliação do tempo de morte do óleo essencial de *S. terebinthifolius* na concentração correspondente a 0,5× CMI frente a *E.coli*, que apresentou os menores valores de CMI e CMB, e teve os resultados apresentados na tabela 3.

Tabela 3. Determinação da Cinética de Morte (Time-Kill) do óleo essencial de *S. terebinthifolius* frente a *E. coli* na concentração de 0,5 vezes a CMI (1,7 mg/mL) em relação ao controle de crescimento do microrganismo.

Tempo (h)	0,5×CMI (UA)	Controle de microrganismo ( <i>E.coli</i> ) (UA)
0	0,0155 ± 0,00	0,0135 ± 0,00
4	0,091 ± 0,00	0,032 ± 0,00

8	$0,519 \pm 0,01$	$0,245 \pm 0,00$
12	$0,811 \pm 0,02$	$0,625 \pm 0,02$
24	$0,789 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,00$

Fonte: Autor (2025)

No grupo controle a densidade óptica aumentou progressivamente de 0,0135 UA (tempo 0) até 1 UA (tempo 24), enquanto no grupo tratado com 0,5 x CMI a densidade óptica variou de 0,015 UA (tempo 0) até 0,789 UA (tempo 24). O controle apresenta crescimento acentuado entre o período de 4 e 12 horas. O tratamento com óleo essencial retardou a dinâmica de crescimento, com o ápice na média de absorbância no tempo 12h, seguido de estabilização após 24h. Ao final do experimento, o crescimento bacteriano observado nas amostras com óleo foi 21,9% menor do que no controle de microrganismo.

Embora se observe uma redução no ritmo de crescimento e uma queda no número absoluto de células ao final de 24 horas, a concentração correspondente a 0,5× CMI não foi suficiente para impedir a multiplicação bacteriana. Achados semelhantes foram descritos por Wang *et al.* (2020), que verificaram que concentrações subinibitórias (0,25 e 0,5× CMI) do óleo essencial de *Cinnamomum camphora* reduziram a velocidade de crescimento e a quantidade de bactérias viáveis ao longo de 24 horas, mas não promoveram sua completa inibição.

Os valores de crescimento bacteriano inicialmente superiores do grupo tratado podem ser explicados como uma resposta de sobrevivência da bactéria em frente a uma concentração subletal do óleo. Efeitos similares foram relatados no estudo realizado por Iavicoli e colaboradores (2021), que explica o fenômeno da hormese, onde microrganismos, ao serem expostos a estímulos de baixo nível, são capazes de produzir respostas que aumentam sua resiliência. Dentre as respostas microbianas descritas, maior crescimento bacteriano e maior produção de biofilme são apontadas.

Os resultados do ensaio realizado com a concentração correspondente a 1× MIC estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4. Determinação da Cinética de Morte (Time-Kill) do óleo essencial de *S. terebinthifolius* frente a *E. coli* nas concentrações de 1 vez a CMI (3,4 mg/mL) em relação ao controle de crescimento do microrganismo.

<b>Tempo (h)</b>	<b>1×CMI (UA)</b>	<b>Controle de microrganismo (<i>E.coli</i>) (UA)</b>
0	0,013 ± 0,00	0,0135 ± 0,00
4	0,013 ± 0,00	0,024 ± 0,00
8	0,023 ± 0,00	0,286 ± 0,00
12	0,016 ± 0,00	0,645 ± 0,00
24	0,019 ± 0,00	1,13 ± 0,04

Fonte: Autor (2025)

Nessa concentração foi possível verificar uma inibição, a densidade óptica dos tubos teste permaneceu praticamente constante durante todo o período experimental, variando em torno de valores baixos, sem crescimento. Os valores se mantiveram constantes em contraste com o controle, que exibiu crescimento progressivo a partir das 8 horas. A ausência de aumento significativo sugere que o óleo essencial, em concentração igual à MIC, impede de forma consistente a replicação celular, mantendo a população bacteriana praticamente inalterada.

Os resultados do ensaio realizado com a concentração correspondente a 2× MIC estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5. Determinação da Cinética de Morte (Time-Kill) do óleo essencial de *S. terebinthifolius* frente a *E. coli* nas concentrações de 2 vezes a CMI (6,8 mg/mL) em relação ao controle de crescimento do microrganismo.

<b>Tempo (h)</b>	<b>2×CMI (UA)</b>	<b>Controle de microrganismo (<i>E.coli</i>) (UA)</b>
0	0,015 ± 0,00	0,012 ± 0,00
4	0,015 ± 0,00	0,024 ± 0,00
8	0,045 ± 0,00	0,287 ± 0,00
12	0,016 ± 0,00	0,585 ± 0,02
24	0,019 ± 0,00	0,996 ± 0,00

Fonte: Autor (2025)

O efeito foi reforçado nos ensaios com  $2\times$  MIC, nos quais a densidade óptica dos tubos teste apresentou comportamento semelhante ao observado em  $1\times$  MIC, mantendo valores baixos e estáveis ao longo de todo o período. Concentrações supra-inibitórias de óleos essenciais costumam causar danos mais extensos à membrana e ao conteúdo intracelular, como extravasamento de citoplasma e proteínas intracelulares (Oliveira *et al.*, 2024). No entanto, os dados obtidos demonstram que o aumento da concentração do óleo não apresentou um aumento correspondente de atividade antimicrobiana, o que indica um platô na eficácia do óleo em concentrações maiores que a CMI.

Os resultados dos ensaios de cinética de morte demonstram que o óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* apresenta ação dependente da concentração frente a *E. coli*. Em  $0,5\times$  CMI, o óleo não impediu o crescimento bacteriano, mas reduziu significativamente sua velocidade e o valor final de biomassa, caracterizando um efeito subinibitório compatível com padrões já descritos para outros óleos essenciais.

Em contraste, nas concentrações de  $1\times$  e  $2\times$  CMI, o crescimento bacteriano foi completamente suprimido ao longo de 24 horas, com manutenção de valores de absorbância baixos e estáveis, indicando interrupção da replicação celular. Dessa forma, a cinética de ação confirma que o óleo exerce efeito bacteriostático em concentrações subinibitórias e efeito bactericida consistente a partir de sua CMI, reforçando seu potencial como agente antimicrobiano eficaz contra *E. coli* e destacando sua relevância para o desenvolvimento de formulações antissépticas e outras aplicações biotecnológicas.

## 6 CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* apresenta em sua composição química uma abundância de monoterpenos (delta-3-careno (31,42%) e silvestreno (14,83%), alfa-pineno (13,91%), alfa-felandreno (13,21%), terpinoleno (4,29%) e mirceno (3,35%)). Esses compostos são amplamente descritos na literatura como agentes antimicrobianos com diversos mecanismos de ação, desde a desestabilização da parede e membrana bacteriana bem como disruptão do metabolismo bacteriano. Entretanto, o óleo apresentou um quimiotípico incomum,

visto que a combinação de delta-3-careno e silvestreno não é comumente reportada na literatura referente ao óleo essencial dessa espécie.

O óleo apresentou atividade de amplo espectro contra todos os membros do grupo ESKAPE-E, em especial *E. coli* (CMI e CMB de 3,4 mg/mL), patógeno que ocupa segundo lugar na Lista de Prioridade de Bactérias Patogênicas da OMS em razão da sua prevalência clínica, altos índices de mortalidade e multidroga resistência.

A atividade comparativamente maior contra Gram-negativos é incomum em óleos essenciais devido a barreira adicional imposta pela parede celular mais complexa dos Gram-negativos. A atividade atípica sugere que o quimiotipo incomum descrito possua um efeito sinérgico entre os monoterpenos majoritários capaz de superar as barreiras intrínsecas dessa classe de microrganismo.

O teste de cinética de morte evidenciou uma atividade antimicrobiana dependente da concentração do óleo frente a *E. coli*. Em concentrações subinibitórias o crescimento bacteriano não foi impedido, porém sofreu redução ao final das 24 horas. Adicionalmente, foi possível observar uma resposta adaptativa da bactéria nas primeiras horas do experimento, compatível com o fenômeno de hormese descrito na literatura.

A partir das concentrações inibitórias de 1 e 2 vezes a CMI, o óleo foi capaz de impedir completamente o crescimento bacteriano ao final das 24 horas. No entanto, a ausência de diferenças relevantes entre as concentrações indica que o óleo atinge efetividade máxima na CMI, caracterizando um platô de eficácia.

Os resultados obtidos reforçam que esse óleo essencial possui propriedades promissoras para aplicações biotecnológicas, especialmente no desenvolvimento de agentes antimicrobianos alternativos e formulações antissépticas. A presença de monoterpenos funcionalmente ativos, muitos deles já reportados como moduladores de membrana, inibidores de biofilme e interferentes em vias regulatórias, amplia as possibilidades de uso do óleo em produtos destinados ao controle microbiano em ambientes hospitalares, comunitários e industriais.

Por fim, os achados destacam a importância de estudos futuros voltados à elucidação dos mecanismos moleculares envolvidos na atividade antimicrobiana e antibiofilme desse quimiotipo, bem como à avaliação de parâmetros fundamentais para sua aplicação prática, incluindo toxicidade, estabilidade físico-química, compatibilidade com diferentes matrizes e viabilidade de produção em escala

industrial. Dessa forma, o óleo essencial de *S. terebinthifolius* se apresenta como um candidato robusto para inovação em produtos biomédicos e estratégias integradas de enfrentamento da resistência antimicrobiana.

## REFERÊNCIAS

- ABUKHALIL, A. D. *et al.* ESKAPE pathogens: antimicrobial resistance patterns. **Infection and Drug Resistance**, 2024. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S471645>.
- ADAMS, R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. 4. ed. Carol Stream, IL: Allured Publishing Corporation, 2007.
- AHMED, M. O.; BAPTISTE, K. E. Vancomycin-resistant enterococci: a review of antimicrobial resistance mechanisms. **Microbial Drug Resistance**, v. 24, n. 5, 2018. DOI: 10.1089/mdr.2017.0147
- AHMED, S. K. *et al.* Antimicrobial resistance: impacts, challenges, and future prospects. **Global Medicine and Health**, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gmedi.2024.100081>
- ALGHAMDI, B. A. *et al.* Antimicrobial Resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 30, n. 4, p. 103604, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103604>
- ALLENSPACH, M.; STEUER, C. α-Pinene: A never-ending story. **Phytochemistry**, v. 190, p. 112857, out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2021.112857>
- ALMEIDA-SILVA, C. A. *et al.* Atividade in vitro de extrato e frações de *Schinus terebinthifolius* Raddi contra *Sporothrix brasiliensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 117, e210430, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/0074-02760220063>
- ALQASMI, M. Therapeutic Interventions for *Pseudomonas* Infections in Cystic Fibrosis Patients: A Review of Phase IV Trials. **Journal of Clinical Medicine**, v. 13, n. 21, p. 6530–6530, 30 out. 2024. DOI: 10.3390/jcm13216530
- BALOUEI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- BOUTZOUKAS, A.; DOI, Y. The global epidemiology of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. **JAC—Antimicrobial Resistance**, v. 7, n. 4, art. dlaf134, 2025. DOI: 10.1093/jacamr/dlaf134.
- BRASIL. Ministério da Saúde. RAM no Brasil. Ministério da Saúde, [s.d.]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/r/ram/ram-no-brasil>. Acesso em: 26 nov. 2025.
- BRAUN, H. G. *et al.* Antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*: an overview of common mechanisms and a current Canadian perspective. **Canadian Journal of Microbiology**, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1139/cjm-2024-0032>

CAIRNS, K. A. et al. Therapeutics for vancomycin-resistant enterococcal bloodstream infections. **Clinical Microbiology Reviews**, 2023. DOI: 10.1128/cmr.00059-22

CAMINA, J. L. et al. Ecological interactions affect the bioactivity of medicinal plants. **Scientific reports**, v. 13, n. 1, 27 jul. 2023. DOI: 10.1038/s41598-023-39358-1

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S.; OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. **Virulence**, v. 12, n. 1, p. 547–569, 2021. DOI: 10.1080/21505594.2021.1878688

CHEN, Q. et al. Chemical composition, antibacterial, anti-inflammatory, and enzyme inhibitory activities of essential oil from *Rhynchanthus beesianus* rhizome. **BioMed Research International**, v. 2021, art. 5562461, 2021. DOI: 10.1155/2021/5562461

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. M07, 12. ed., 2024.

COLE, E. R. et al. Chemical composition of essential oil from ripe fruit of *Schinus terebinthifolius* Raddi and evaluation of its activity against wild strains of hospital origin. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 821–828, 2014. DOI: 10.1590/S1517-83822014000300009

COSTA DA SILVA, M. M. et al. Antibiotic-potentiating activity of the *Schinus terebinthifolius* Raddi essential oil against MDR bacterial strains. **Plants**, v. 12, n. 8, p. 1587, 2023. DOI: 10.3390/plants12081587

DALLI, M. et al. Molecular Composition and Antibacterial Effect of Five Essential Oils Extracted from *Nigella sativa* L. Seeds against Multidrug-Resistant Bacteria: A Comparative Study. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, p. 1–9, 15 mar. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/6643765>

DANNENBERG, G. da S. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from pink pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) in vitro and in cheese experimentally contaminated with *Listeria monocytogenes*. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 36, p. 120–127, 2016. DOI: 10.1016/j.ifset.2016.06.009

DANNENBERG, G. da S. et al. Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action. **Food Control**, v. 95, p. 115–120, 2019. DOI: 10.1016/j.foodcont.2018.07.034

DAVIN-REGLI, A.; JEAN-MARIE PAGÈS; VERGALLI, J. The contribution of porins to enterobacterial drug resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 2024. DOI: 10.1093/jac/dkae265

DAVIN-REGLI, A.; LAVIGNE, J.-P.; PAGÈS, J.-M. Enterobacter spp.: update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 4, e00002-19, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-19>.

DE OLIVEIRA, D. M. P. et al. Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. **Clinical Microbiology Reviews**, 2020. DOI: 10.1128/CMR

DI NAPOLI, M. et al. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oil of Italian *Prangos trifida* (Mill.) Hernst. & Heyn. **Natural Product Research**, v. 37, n. 22, p. 3772–3786, 2023. DOI: 10.1080/14786419.2022.2151062

ELFADADNY, A. et al. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: navigating clinical impacts, current resistance trends, and innovations in breaking therapies. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 2024. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1374466.

EL-NASHAR, H. et al. Chemical composition, antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi growing in Egypt. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 11, p. 235–239, 2019. DOI: 10.25258/phyto.11.3.20

ENNIGROU, A. et al. Assessing the fatty acid, essential oil composition, their radical scavenging and antibacterial activities of *Schinus terebinthifolius* Raddi leaves and twigs. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 4, p. 1582–1590, 2018. DOI: 10.1007/s13197-018-3049-6

ESPINOSA-ESPINOSA, L. et al. Biological Activity of *Bursera schlechtendalii* Essential oil and the Roles of Its Chemical Components in the Wound Healing Process. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 13, p. 11040, 3 jul. 2023. DOI: [10.3390/ijms241311040](https://doi.org/10.3390/ijms241311040)

FEKRY, M. et al. GC-MS analysis and microbiological evaluation of caraway essential oil as a virulence-attenuating agent against *Pseudomonas aeruginosa*. **Molecules**, v. 27, n. 23, art. 8532, 2022. DOI: 10.3390/molecules27238532

GALOVIČOVÁ, L. et al. Biological Activity of *Cupressus sempervirens* Essential Oil. **Plants**, v. 12, n. 5, p. 1097–1097, 1 mar. 2023. DOI: 10.3390/plants12051097

GUIMARÃES B. d. A. et al. Seasonality, Composition, and Antioxidant Capacity of Limonene/δ-3-Carene/(E)-Caryophyllene *Schinus terebinthifolia* Essential Oil Chemotype from the Brazilian Amazon: A Chemometric Approach. **Plants**, v. 12, n. 13, p. 2497–2497, 29 jun. 2023. DOI: 10.3390/plants12132497

RAMOS, M. et al. Antimicrobial properties of PLA membranes loaded with pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) essential oil applied in simulated cream cheese packaging. **Food Biophysics**, v. 18, n. 1, p. 107–119, 8 jul. 2022. DOI: 10.1007/s11483-022-09750-x

GIEDRĖ VALDONĖ SAKALAUSKIENĖ et al. Unseen Enemy: Mechanisms of Multidrug Antimicrobial Resistance in Gram-Negative ESKAPE Pathogens. **Antibiotics**, v. 14, n. 1, p. 63–63, 2025. DOI: 10.3390/antibiotics14010063

HU, M.; CHUA, S. L. Antibiotic-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Current Challenges and Emerging Alternative Therapies. **Microorganisms**, v. 13, n. 4, p. 913, 2025. DOI: 10.3390/microorganisms13040913

IAVICOLI, I. et al. Hormetic dose responses induced by antibiotics in bacteria: a phantom menace to be thoroughly evaluated to address the environmental risk and tackle the antibiotic resistance phenomenon. **Science of the Total Environment**, 2021, art. 149255. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.149255

ISRAYILOVA, A. et al. Antimicrobial activity and time-kill curve study of newly synthesized dialkyl carboxylate cyclohexane derivative: a novel anti-*Pseudomonas aeruginosa* compound. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 44, e58868, 2022. DOI: <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v44i1.58868>.

JOHANI, K. et al. Characterization of microbial community composition, antimicrobial resistance and biofilm on intensive care surfaces. **Journal of Infection and Public Health**, v. 11, n. 3, p. 418–424, 2018. DOI: 10.1016/j.jiph.2017.10.005

JOSEPH, A. et al. Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: a narrative review. **Toxins**, v. 12, n. 2, art. 67, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxins12020067>.

KHWAZA, V.; ADERIGBIGBE, B. A. Antibacterial activity of selected essential oil components and their derivatives: a review. **Antibiotics**, v. 14, n. 1, p. 68, 2025. DOI: 10.3390/antibiotics14010068

KONG, A. S. Y. et al. Harnessing monoterpenes and monoterpenoids as weapons against antimicrobial resistance. **Polish Journal of Microbiology**, v. 74, n. 1, p. 1–18, 2025. DOI: 10.33073/pjm-2025-010.

LEE, A. S. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, art. 18033, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>.

PENG, L. et al. Chemical composition of essential oil in Mosla chinensis Maxim cv. Jiangxiangru and its inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* biofilm formation. **Open Life Sciences**, v. 13, n. 1, p. 1–10, 20 mar. 2018.

QIAN, Q.; ZHUO, Z.; PENG, Y.; XU, D. Chemical composition variation in essential oil and their correlation with climate factors in Chinese prickly ash peels (*Zanthoxylum armatum* DC.) from different habitats. **Molecules**, v. 29, p. 1343, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules29061343>.

MAILLARD, J.; CENTELEGHE, I. How biofilm changes our understanding of cleaning and disinfection. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 12, n. 1, p. 95, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01290-4>.

MAREKOVIĆ, I. et al. Vancomycin-Resistant Enterococci: current understandings of resistance in relation to transmission and preventive strategies. **Pathogens**, v. 13, n. 11, art. 966, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens13110966>.

MANSINHOS, I. et al. Environmental Factors Related to Climate Change Alter the Chemical Composition and Biological Activity of *Lavandula viridis* L'Hér Essential Oil. **Agriculture**, v. 14, n. 7, p. 1067, 2 jul. 2024. DOI: 10.3390/agriculture14071067

MELO D. A. et al. Composição e atividade antimicrobiana do óleo essencial da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) com vistas ao uso como antimicrobiano para

leitões desmamados. Revista Acadêmica Ciência Animal, v. 12, n. 3, p. 227–227, 15 jul. 2014. DOI: <https://doi.org/10.7213/academica.12.03.AO08>

MIETHKE, M. et al. Towards the sustainable discovery and development of new antibiotics. **Nature Reviews. Chemistry**, v. 5, n. 5, p. 1–24, 19 ago. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41570-021-00313-1>

MILLER, W. R.; ARIAS, C. A. ESKAPE pathogens: antimicrobial resistance, epidemiology, clinical impact and therapeutics. **Nature Reviews Microbiology**, 2024. DOI: 10.1038/s41579-024-01054-w

MIRKOVIĆ, S. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oils from selected *Pinus* species from Bosnia and Herzegovina. **Antibiotics**, v. 14, n. 7, art. 677, 2025. DOI: 10.3390/pharmaceutics16101331

MRÁZ, P. et al. Antibacterial activity and chemical composition of popular plant essential oils and their positive interactions in combination. **Molecules**, v. 30, n. 9, art. 1864, 2025. DOI: 10.3390/molecules30091864

MUILU-MÄKELÄ, R. et al. Antibacterial and oxidative-stress protective effects of five monoterpenes from softwood. **Molecules**, v. 27, n. 12, art. 3891, 2022. DOI: 10.3390/molecules27123891

MULANI, M. S. et al. Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: a review. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 539, 2019. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00539

MURRAY, C. J. L. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629–655, 2022. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0

NASROLLAHIAN, S. A review of the mechanisms that confer antibiotic resistance in pathotypes of *Escherichia coli*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 2024, artigo 1387497. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1387497>.

NOVOVIĆ, K.; JOVČIĆ, B. Colistin Resistance in *Acinetobacter baumannii*: Molecular Mechanisms and Epidemiology. **Antibiotics**, v. 12, n. 3, art. 516, 2023 DOI: 10.3390/antibiotics12030516

NUNES, M. A. S. et al. *Schinus terebinthifolius* leaf lectin (SteLL) reduces the bacterial and inflammatory burden of wounds infected by *Staphylococcus aureus*, promoting skin repair. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 11, art. 1441, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph15111441>

OLIVEIRA, K. C. et al. Essential oil from the leaves, fruits and twigs of *Schinus terebinthifolius*: chemical composition, antioxidant and antibacterial potential. **Molecules**, v. 29, n. 2, p. 469, 2024. DOI: 10.3390/molecules29020469

OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Antimicrobial resistance: global report on surveillance*. Genebra: OMS, 2014. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241564748>

OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Lack of new antibiotics threatens global efforts to contain drug-resistant infections*. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/17-01-2020-lack-of-new-antibiotics-threatens-global-efforts-to-contain-drug-resistant-infections>

OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024*. Genebra: OMS, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>

POUDEL, A. N. et al. The economic burden of antibiotic resistance: a systematic review and meta-analysis. **PLOS ONE**, v. 18, n. 5, e0285170, 2023. DOI: 10.1371/journal.pone.0285170

RAMSEY, J. T. et al. Essential oils and health. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 93, n. 2, p. 291–305, 2020.

RIBEIRO, A. C. et al. Pink pepper essential oil (*Schinus terebinthifolius*): antimicrobial activity, microencapsulation and applications in food preservation. **Journal of Food Science and Technology**, v. 62, p. 2155–2164, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13197-025-06298-9>

RICE, L. B. The clinical consequences of antimicrobial resistance. **Current Opinion in Microbiology**, v. 12, n. 5, p. 476–481, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2009.08.001>

RUSSO, T. A.; MARR, C. M. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 32, n. 3, p. e00001-19, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1128/cmr.00001-19>

GIEDRĘ VALDONĘ SAKALAUSKIENĘ et al. Unseen Enemy: Mechanisms of Multidrug Antimicrobial Resistance in Gram-Negative ESKAPE Pathogens. **Antibiotics**, v. 14, n. 1, p. 63–63, 9 jan. 2025. DOI: 10.3390/antibiotics14010063

SALEM, M. Z. M. et al. Antibacterial activity of extracted bioactive molecules of *Schinus terebinthifolius* ripened fruits against some pathogenic bacteria. **Microbial Pathogenesis**, v. 120, p. 119–127, 2018. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.04.040

SANTOS, G. K. N. et al. Essential oils from *Alpinia purpurata* (Zingiberaceae): chemical composition, oviposition deterrence, larvicidal and antibacterial activity. **Industrial Crops and Products**, v. 40, p. 254–260, 2012.

SCHERF, J. R. et al. Effect of terpinolene against the resistant *Staphylococcus aureus* strain, carrier of the efflux pump QacC and β-lactamase gene, and its toxicity in the *Drosophila melanogaster* model. **Microbial Pathogenesis**, v. 149, p. 104528, dez. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104528>

SENDRA, E. et al. Impact of multidrug resistance on the virulence and fitness of *Pseudomonas aeruginosa*: a microbiological and clinical perspective. **Infection**, 2 jul. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s15010-024-02313-x>

SERAG M.; DAADEER D.; ELFAYOUMY R. Antibacterial potential of essential oils extracted from three medicinal plants against some foodborne bacteria. *Catrina The International Journal of Environmental Sciences*, v. 28, n. 1, p. 73–91, 1 jul. 2023. DOI:<https://doi.org/10.21608/cat.2023.220193.1179>

SCOFFONE, V. C. et al. The Evolution of Antimicrobial Resistance in *Acinetobacter baumannii* and New Strategies to Fight It. *Antibiotics*, v. 14, n. 1, p. 85–85, 2025. DOI: 10.3390/antibiotics14010085

SHU, H. et al. Antimicrobial activity and proposed action mechanism of 3-Carene against *Brochothrix thermosphacta* and *Pseudomonas fluorescens*. *Molecules*, v. 24, n. 18, art. 3246, 2019. DOI: 10.3390/molecules24183246

SOKOVIĆ, M. et al. Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an In Vitro Model. *Molecules*, v. 15, n. 11, p. 7532–7546, 27 out. 2010. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules15117532>

STOJOWSKA-SWĘDRZYŃSKA, K. et al. Antibiotic heteroresistance in *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 1, p. 449–449, 2022. DOI: 10.3390/ijms23010449

TANG, Z. et al. Antibacterial Mechanism of 3-Carene against the Meat Spoilage Bacterium *Pseudomonas lundensis* and Its Application in Pork during Refrigerated Storage. *Foods*, v. 11, n. 1, p. 92–92, 30 dez. 2021.

TANG, Z. et al. Unraveling the antibacterial mechanism of 3-carene against *Pseudomonas fragi* by integrated proteomics and metabolomics analyses and its application in pork. *International Journal of Food Microbiology*, v. 379, p. 109846, 16 out. 2022.

TOUAITIA, R. et al. *Staphylococcus aureus*: a review of the pathogenesis and virulence mechanisms. *Antibiotics*, v. 14, n. 5, art. 470, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics14050470>

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature-programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 11, p. 463–471, 1963. DOI:[https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)80947-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)80947-x)

VAN DUIJKEREN, E. et al. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Microbiology Spectrum*, v. 6, n. 1, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0019-2017>

VENKATESWARAN, P. et al. Revisiting ESKAPE Pathogens: virulence, resistance, and combating strategies focusing on quorum sensing. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 13, 29 jun. 2023. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1159798

VITTORAKIS, E. et al. A Comparative Analysis of MRSA: Epidemiology and Antibiotic Resistance in Greece and Romania. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 14, p. 7535–7535, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25147535>

WEI, Y.; PALMER, D. P.; PALMER, K. L. *Enterococcus faecium*: evolution, adaptation, pathogenesis and emerging therapeutics. **Nature Reviews Microbiology**, v. 22, n. 4, p. 705–721, 2024. DOI: 10.1038/s41579-024-01058-6

WEI, S.-Y. et al. α-Pinene: inhibitor of *Acinetobacter baumannii* biofilms and potential therapeutic agent for pneumonia. **International Immunopharmacology**, v. 151, art. 114287, 2025. DOI: 10.1016/j.intimp.2025.114287

WANG, L. et al. Antibacterial activity of *Cinnamomum camphora* essential oil on *Escherichia coli* during planktonic growth and biofilm formation. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, art. 561002, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.561002

WANG, G. et al. The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae*. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 17, p. 6278, 2020. DOI: 10.3390/ijerph17176278

ZHOU, Y. et al. Urinary tract infections caused by uropathogenic *Escherichia coli*: mechanisms of infection and treatment options. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 13, art. 10537, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms241310537>

ZHAO, K. et al. Terpenoids as principal bioactive compounds of *Cissampelos oppositifolia* essential oils: enhancing synergistic efficacy with conventional antibiotics. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 14, art. 1481656, 2024. DOI: 10.3389/fcimb.2024.1481656

## APÊNDICE A

Meios utilizados para realização dessa pesquisa e sua composição

Meio ágar Mueller-Hinton:

Componente	Quantidade (g/L)
Extrato de Carne	2
Ácido Hidrolisado de Caseína	17,5
Amido	1,5
Ágar	17

pH Final:  $7,3 \pm 0,1$  a  $25^\circ\text{C}$

Meio caldo Mueller-Hinton:

Componente	Quantidade (g/L)
Extrato de Carne	2
Ácido Hidrolisado de Caseína	17,5
Amido	1,5

pH Final:  $7,4 \pm 0,2$  a  $25^\circ\text{C}$

Meio caldo Nutriente:

Componente	Quantidade (g/L)
Extrato de Carne	3
Peptona	5

pH Final:  $6,8 \pm 0,2$  a  $25^\circ\text{C}$

caldo Brain Heart Infusion (BMI)

Componente	Quantidade (g/L)
Infusão Cérebro e Coração	17,5
Peptona	10
Glicose	2
Cloreto de Sódio	5
Fosfato Disódio	2,5

pH Final:  $7,4 \pm 0,2$  a  $25^\circ\text{C}$