

EFICÁCIA *IN VITRO* DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO (*Cymbopogon flexuosus* STEUD. WATS.) FRENTE A BACTÉRIAS ENTÉRICAS DE ORIGEM AVÍCOLA

[*In vitro* effect of “capim-limão” (*Cymbopogon flexuosus* Steud. Wats.) essential oil against enteric bacteria from avian source]

Izabela Lorena Azevedo¹, Anna Christina de Almeida^{1*}, Ernane Ronie Martins¹, Wedson Carlos Lima Nogueira¹, Daniel Emygdio de Faria Filho², Stephanie Pedrosa de Oliveira¹, João Paulo Bicalho Prates¹, Cintya Neves de Souza¹

¹ Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. ICA-UFMG. Montes Claros-MG, Brasil.

² Universidade de São Paulo. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. FAZEA-USP. Pirassununga-SP, Brasil.

RESUMO – O uso de antimicrobianos como melhoradores de desempenho tem representado um risco à saúde pública devido à associação destes com o surgimento de resistência bacteriana e resíduos nos produtos. Como alternativa, pesquisas têm indicado a utilização de aditivos alimentares naturais, como o óleo essencial de capim-limão. Objetivou-se neste artigo avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) frente a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* entéricas isoladas de aves de postura (*Gallus gallus domesticus*). Foram preparadas cinco concentrações do óleo essencial (160; 80; 40; 20 e 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$) e então realizados testes *in vitro* de difusão em disco e determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM). Os resultados indicaram que a concentração de 160 $\mu\text{L mL}^{-1}$ propiciou os maiores diâmetros de halos de inibição na difusão em disco, diferindo-se estatisticamente das demais concentrações ($p < 0,05$). Houve efeito inibitório (CIM) a partir da concentração de 80 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo para todas as bactérias mas a CBM não foi detectada. Conclui-se que o óleo essencial de capim-limão apresenta atividade antimicrobiana *in vitro* frente a *S. aureus* e *E. coli* isoladas de aves na concentração de 160 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Novos estudos são necessários para avaliar a eficácia do uso de doses superiores e indicar esse óleo como aditivo em dietas de aves.

Palavras-Chave: plantas medicinais; capim-santo; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; avicultura.

ABSTRACT – The use of antimicrobials as performance enhancers has represented a risk to public health due to their association with the emergence of bacterial resistance and residues in products. Alternatively, researches have indicated the use of natural food additives, such as “capim-limão” essential oil. This paper aims to evaluate the antimicrobial activity of “capim-limão” essential oil (*Cymbopogon flexuosus*) against enteric *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated from laying hens (*Gallus gallus domesticus*). Five concentrations of the essential oil (160; 80; 40; 20 and 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$) were prepared and then *in vitro* disk diffusion tests and determination of both Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were performed. The results showed that the concentration of 160 $\mu\text{L mL}^{-1}$ provides the largest inhibition zone diameters in disk diffusion, showing statistical differences in relation to the other concentrations ($p < 0.05$). There was inhibitory effect (MIC) at the concentration of 80 $\mu\text{L mL}^{-1}$, but the bactericidal effect was not found. The conclusion was that the “capim-limão” essential oil has antimicrobial activity against *S. aureus* and *E. coli* isolated from poultry at the concentration of 160 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Further studies are needed to evaluate the efficacy of using higher doses and indicate that oil as an additive in poultry diets.

Keywords: medicinal plants; “capim-santo”; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; poultry farming.

* Autor para correspondência. E-mail: aca2006@ica.ufmg.br

Recebido: 15 de dezembro de 2015.

Aceito para publicação: 12 de janeiro de 2016.

INTRODUÇÃO

A avicultura é um dos setores mais desenvolvidos e organizados dentro da pecuária brasileira e vem se desenvolvendo consideravelmente ao longo dos anos, com avanços na genética, nutrição, sanidade e manejo (Pinotti & Paulillo, 2006).

Parte desse crescimento se deve ao uso de antimicrobianos como aditivos nas rações das aves, fornecidos em doses subterapêuticas com o objetivo de melhorar o desempenho zootécnico dos animais. Esses aditivos são chamados de melhoradores de desempenho (Brasil, 2004).

Apesar dos benefícios, nos últimos anos o uso desses produtos foi restringido na União Europeia em virtude das suspeitas de seleção de microrganismos resistentes e do acúmulo de resíduos na carne e em ovos (Santos et al., 2005).

Muitos óleos essenciais têm atividade antimicrobiana comprovada e efeito *in vivo* semelhante ao dos melhoradores, podendo ser alternativas viáveis para substituir os antimicrobianos (Karadas et al., 2014).

Embora seus mecanismos de ação não sejam ainda totalmente elucidados, esses aditivos podem exercer efeito sobre a microbiota intestinal, promovendo a seleção para microrganismos benéficos (Santos et al., 2005). Entre os principais patógenos de aves estão *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp., que podem danificar a estrutura da mucosa intestinal, causando grandes prejuízos no desempenho do animal (Barcelos et al., 2006).

O óleo essencial extraído das folhas de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) é utilizado na indústria de cosméticos e de medicamentos em função do aroma, além de apresentar atividade anticancerígena, antimicrobiana e antifúngica. O principal constituinte é o citral (até 85% do óleo), formado por dois isômeros, neral e geranial, que conferem o aroma de limão e as propriedades medicinais à planta (Desai & Parikh, 2012).

Nesse contexto, objetivou-se avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) frente a bactérias entéricas isoladas de aves (*Gallus gallus domesticus*).

MATERIAL E MÉTODOS

Óleo essencial de capim-limão

O óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* foi adquirido comercialmente junto à empresa Ferquima Indústria e Comércio LTDA (localizada

em Vargem Grande Paulista, SP, Brasil), em embalagem de 500 mL, sendo analisado por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM). A análise foi realizada em cromatógrafo Agilent Technologies (7890A) acoplado a espectrômetro de massas (MS 5975C) dotado de coluna capilar DB-5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) e hélio (1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$) como gás de arraste. O injetor foi mantido a 220°C, seguindo a programação da temperatura de 60°C-240°C (3°C min^{-1}), operando em impacto eletrônico a 70 eV, em uma faixa de 45 a 550 (m/z). A identificação dos constituintes do óleo essencial foi feita com o uso do *software* MSD Chemstation, juntamente com a biblioteca (National Institute of Standards and Technology, NIST 2002). A abundância relativa (%) dos constituintes foi calculada a partir da área de pico do cromatograma (CG) e organizada de acordo com a ordem de eluição.

Microrganismos

Foram avaliadas cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* isoladas da cloaca de aves (*Gallus gallus domesticus*) de postura sadias do Setor de Avicultura da Instituição (Souza et al., 2015). As amostras estavam mantidas a -20°C em 20% de glicerol.

Para a ativação, foram inoculados 12 μL da cultura de *E. coli* e *S. aureus* em 10 mL de caldo BHI (*Brain Heart Infusion*, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Maharashtra, Índia). O inóculo foi levado à estufa a 37°C por 24 horas para ativar o crescimento microbiano, por duas vezes consecutivas. Após esse período, as culturas foram inoculadas em PCA (Agar Padrão para Contagem, Isofar Ind. E Com. Produtos Químicos LTDA., Rio de Janeiro, Brasil) e incubadas nas mesmas condições para obter massa microbiana. Foi realizada a colocação de lâminas para avaliação da pureza das cepas.

Testes de sensibilidade

Adotaram-se as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute- CLSI (2012b) para realização dos testes sensibilidade por difusão em disco e CLSI (2012a) para a realização dos testes sensibilidade por diluição com a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) utilizado o método de Macrodiluição (tubo) em caldo. Para a verificação da sensibilidade das bactérias frente ao óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*, foram avaliadas cinco concentrações distintas do óleo, segundo metodologia proposta por Oliveira *et al.* (2006). Foram preparados sete tubos de ensaio contendo 4,2 mL de BHI e 20 μL de Tween 80 (Oxiten Labsynth produtos para laboratórios LTDA., São Paulo, Brasil). Na preparação das concentrações, foram pipetados 800 μL do óleo

essencial e transferidos para um dos tubos. Foi realizada a homogeneização com o vórtex, e então um volume de 800 μL foi pipetado desse tubo e transferido para o próximo, e assim sucessivamente até o quinto tubo, obtendo-se as concentrações de 160; 80; 40; 20 e 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Após a preparação das concentrações, um volume de 12,5 μL do inóculo da cultura de *S. aureus* e de *E. coli*, padronizado para 0,5 na escala McFarland, foi adicionado a cada tubo. Para um dos outros dois tubos, que continham apenas BHI e Tween 80, foram transferidos 800 μL do óleo essencial (esse tubo foi chamado de controle negativo, visto que a cultura não foi inoculada) e para o outro foram transferidos 12,5 μL do inóculo da cultura (controle positivo, sem o óleo essencial). Cada teste foi realizado em oito repetições para cada concentração e para cada microrganismo.

Após 24 horas em estufa a 37°C, a turbidez das amostras foi comparada com os controles positivo (onde, em virtude da ausência de óleo essencial, a cultura desenvolve-se livremente, dando ao meio e cultura a aparência turva) e negativo (devido à ausência da cultura, o meio apresentou aspecto leitoso). Todas as diluições do óleo em que não foi observado crescimento bacteriano na CIM foram plaqueadas em superfície em ágar PCA, por meio de alça de Drigalsky estéril. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, quando foi realizada a contagem das colônias com objetivo de definir a concentração bactericida mínima (CBM).

Para o teste de sensibilidade antimicrobiana em discos, a preparação das concentrações foi realizada seguindo a mesma metodologia utilizada na CIM, porém na diluição do óleo essencial foi utilizada

água destilada ao invés do meio BHI. De cada um dos tubos com as concentrações (160; 80; 40; 20 e 10 $\mu\text{L mL}^{-1}$) foi retirado o volume de 10 μL , que foi transferido para cinco discos de papel filtro estéreis (6 mm de diâmetro), devidamente identificados quanto à concentração. Como controle negativo, foi utilizado outro disco de papel filtro embebido em uma mistura de água destilada e Tween 80. O controle positivo utilizado foi um disco comercial de antimicrobiano padrão, contendo Amicacina.

As culturas microbianas estudadas, padronizadas para 0,5 na escala de McFarland, foram inoculadas em oito placas com ágar *Mueller Hinton* (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Maharashtra, Índia). Após a inoculação das culturas e secagem das placas, os discos de papel filtro e o antibiótico foram depositados sobre o meio de cultura, e as placas foram então incubadas em estufa a 37°C por 24 horas, quando os halos foram medidos com régua milimétrica.

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e teste de *Bonferroni* a 5% de probabilidade, no programa estatístico “*Graf Pad Prism*” para comparação entre as concentrações e o controle e das concentrações entre si. Posteriormente, realizou-se a análise de regressão, para determinar a melhor concentração do óleo para cada bactéria.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise cromatográfica estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Abundância relativa dos compostos detectados no óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* pela técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

N ^o 1	TR ²	Compostos	Abundância relativa (%)
1	6,3	Canfeno	0,034
2	7,2	6-metil 5-Hepten-2-one	0,07
3	11,3	Linalol	1,17
4	14,6	desconhecido	0,68
5	17,2	β -Cital	33,8
6	17,6	trans-Geraniol	6,06
7	18,5	α -Cital	43,62
8	23,1	Acetato de Geraniol	4,2
9	24,7	Cariofileno	2,15
10	28,5	γ -Cadineno	0,33
Total			92,1
Outros			7,8

¹ Número do pico

² Tempo de retenção

O componente majoritário identificado no óleo essencial foi o citral (77,42%), com abundância relativa semelhante à descrita por Adukwu *et al.* (2012), que identificaram o citral na proporção de 80%.

O citral é um aldeído alifático, composto pela mistura entre os isômeros neral (β -citral ou cis-

citral) e geranial (α -citral ou trans-citral), conferindo ao *Cymbopogon flexuosus* a atividade antimicrobiana (Ganjewala, 2009).

Os resultados do teste de difusão em disco utilizando óleo essencial de capim-limão estão apresentados nas Figuras 1 e 2.

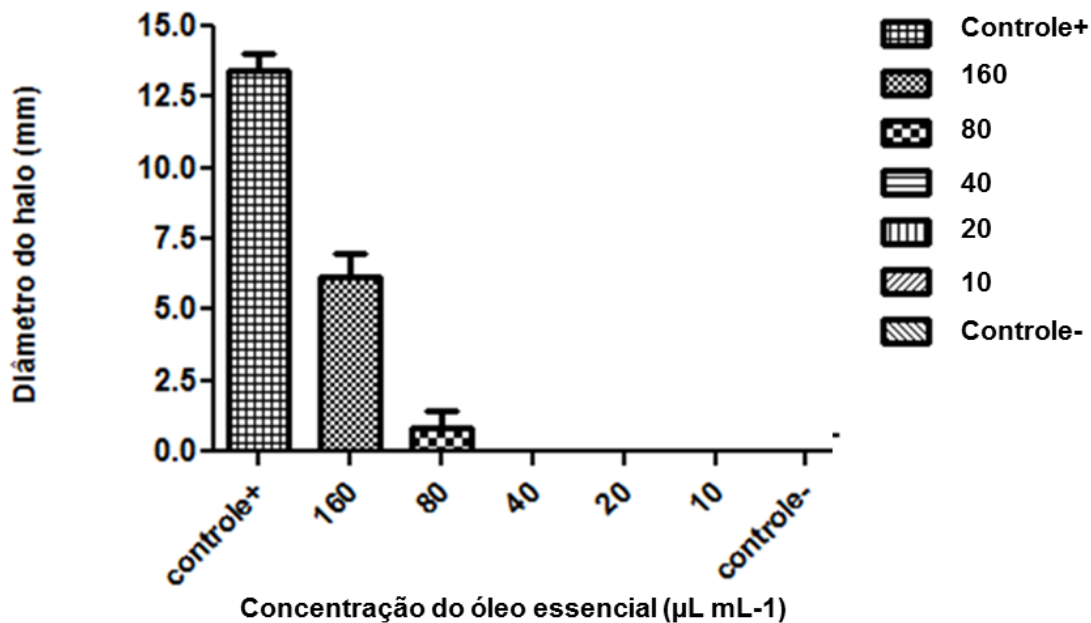


Figura 1. Média dos halos obtidos no teste de difusão em disco com o óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* frente a *Staphylococcus aureus* pelo teste de Bonferroni a 5% de probabilidade.

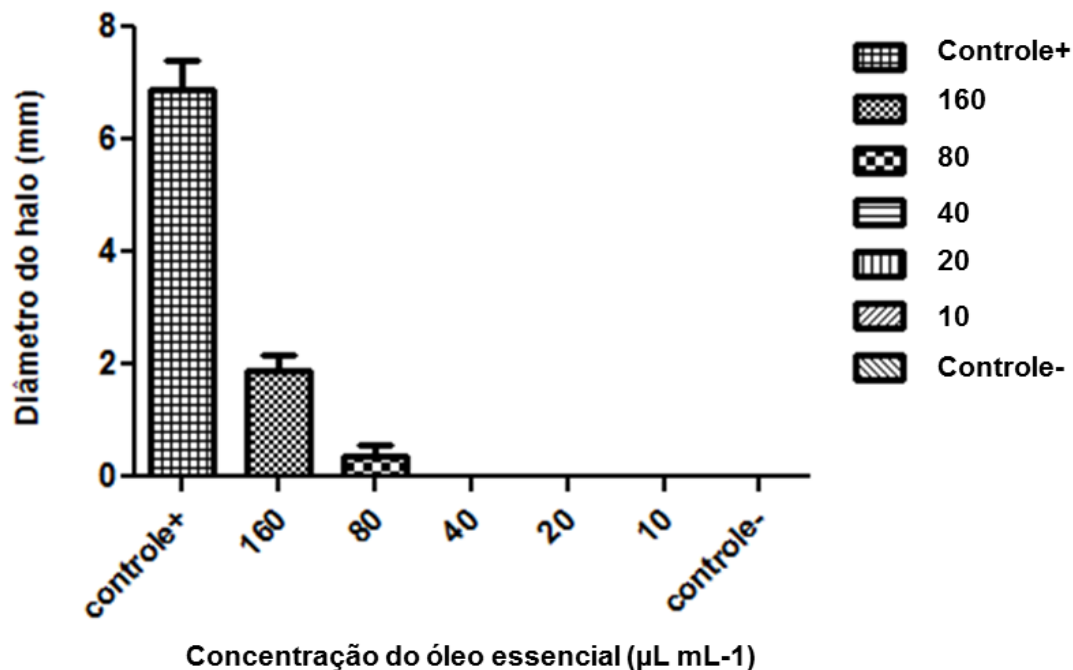


Figura 2. Média dos halos obtidos no teste de difusão em disco com o óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* frente a *Escherichia coli* pelo teste de Bonferroni a 5% de probabilidade.

O óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* apresentou efeito antimicrobiano frente às duas bactérias testadas (Figuras 1 e 2). Para ambos os microrganismos, foram observadas diferenças estatísticas entre as concentrações do óleo ($p < 0,05$) e, a partir da aplicação do teste *Bonferroni*, foi possível apontar que a concentração de $160 \mu\text{L mL}^{-1}$ resultou nos maiores halos frente aos dois microrganismos, sendo estatisticamente menores apenas que os halos dos antibióticos (controle positivo) e maiores que todas as outras concentrações. Os halos das concentrações de 80; 40; 20 e $10 \mu\text{L mL}^{-1}$ foram estatisticamente iguais ao do controle negativo.

Na análise de regressão, o modelo que melhor se ajustou ao comportamento dos dados foi o quadrático (Figuras 3 e 4). A melhor concentração, dentro do intervalo testado, foi $160 \mu\text{L mL}^{-1}$ de óleo essencial, para ambos os microrganismos. As maiores concentrações resultaram em maiores diâmetros de halo, mas são necessários novos estudos com doses superiores para afirmar até que ponto a capacidade de inibir o crescimento microbiano aumenta.

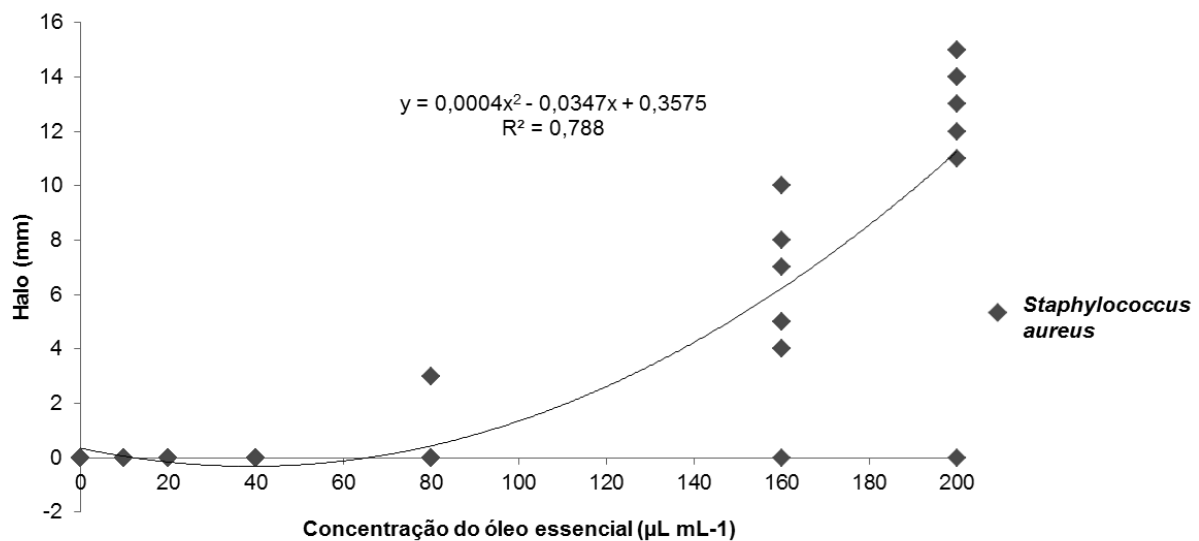


Figura 3. Diâmetro dos halos obtidos no teste de difusão em disco com o óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* frente a *Staphylococcus aureus*.

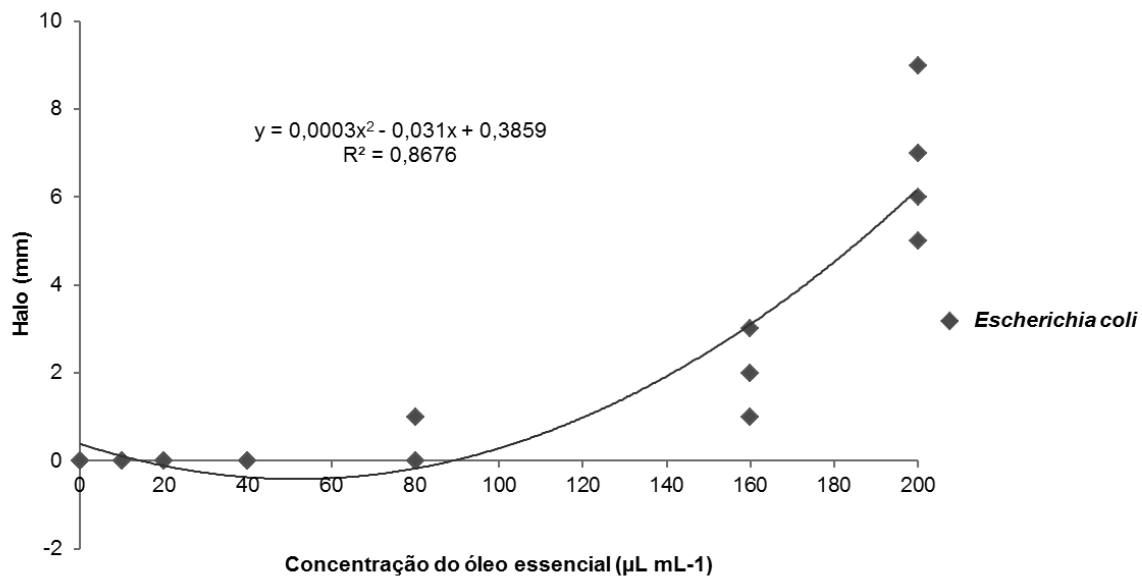


Figura 4. Diâmetro dos halos obtidos no teste de difusão em disco com o óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* frente a *Escherichia coli*.

No teste de CIM, a partir da comparação da turbidez dos tubos com os controles positivo e negativo, foi possível observar diminuição do crescimento microbiano a partir da concentração de 80 $\mu\text{L mL}^{-1}$ para os dois microrganismos, confirmando os resultados obtidos na difusão em disco. Para comprovar a ausência de crescimento, realizou-se o teste de CBM com as concentrações de 40, 80 e 160 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

No teste de CBM, observou-se crescimento em pelo menos uma das repetições em cada concentração, indicando que a CBM não foi determinada nas concentrações do óleo estudadas, estando, portanto, acima de 160 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

Os óleos essenciais são compostos que, por serem hidrofóbicos, são facilmente difundidos pela parede celular dos microrganismos e causam danos à membrana, principalmente no que diz respeito à fluidez e permeabilidade (Millezi et al., 2012). Portanto, os óleos essenciais, inclusive o de capim-limão, têm maior atividade frente a bactérias gram-positivas. As gram-negativas são mais resistentes devido à maior complexidade da sua membrana plasmática, que atua como uma barreira à difusão dos componentes hidrofóbicos dos óleos essenciais (Naik et al., 2010).

Os resultados para a atividade frente a *S. aureus* e *E. coli* concordam com os de outros autores no que diz respeito à maior sensibilidade de bactérias gram-positivas, embora haja divergência em relação aos diâmetros de halos observados. Adukwu et al. (2012) concluíram que o óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) possui efeito antimicrobiano, alcançando halos superiores a 80 mm frente a *S. aureus*. Kakarla & Ganjewala (2009) relataram halos entre 30 e 38 mm para *S. aureus* e de 23 e 33 mm para *E. coli*, utilizando o óleo essencial de *C. flexuosus*. Silveira et al. (2012) observaram halos de 50 mm para *S. aureus* e de 17,2 mm para *E. coli*.

Os resultados divergentes podem ser explicados por diferenças na composição dos óleos essenciais (que pode ser afetada pela época do ano e horário de colheita, por exemplo); diferenças na metodologia e nas concentrações utilizadas; o crescimento microbiano também pode ter sido diferente, visto que se tratava de microrganismos isolados e não cepas padronizadas.

As espécies *Cymbopogon flexuosus* e *Cymbopogon citratus* são plantas diferentes, porém com a composição muito semelhante (presença majoritária de citral), sendo inclusive conhecidas pelo mesmo nome comum (capim-limão) (Ganjewala, 2009). Naik et al. (2010), ao avaliarem o óleo essencial de *Cymbopogon*, verificaram atividade antimicrobiana

sobre *S. aureus* (halo de inibição de 14,3 a 29,6 mm) e *E. coli* (8 a 22,33 mm).

Resultados semelhantes aos do presente estudo foram relatados por Millezi et al. (2012), que verificaram halos de inibição entre 2 e 5,6 mm para *E. coli* e de 5 a 12 mm para *S. aureus*, utilizando óleo essencial de *C. citratus* em concentrações de 0,5 a 50% (v/v).

Os resultados revelam que o óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* apresenta potencial para uso em rações de frangos de corte em substituição aos melhoradores de desempenho. Entretanto, testes toxicológicos e de atividade *in vivo* são necessários.

CONCLUSÃO

O óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon flexuosus*) apresenta atividade antimicrobiana frente a *S. aureus* e *E. coli* isoladas de aves, inibindo o crescimento microbiano na concentração de 160 $\mu\text{L mL}^{-1}$.

AGRADECIMENTOS

FAPEMIG, CNPq, CAPES, UFMG/PRPq.

REFERÊNCIAS

- ADUKWU, E.C.; ALLEN, S.C.H.; PHILLIPS, C.A. The anti-biofilm activity of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) essential oils against five strains of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**. v. 113, n. 5, p. 1217-1227, 2012.
- BARCELOS, A.S.; FLÔRES, M.L.; KOMMERS, G.D.; NASCIMENTO, V.P.; SEGABINAZI, S.D.; ANTONIAZZI, T.; BASSAN, J.D.L. Macroscopia, histopatologia e bacteriologia de fígados de frangos (*Gallus gallus*) condenados no abate. **Ciência Rural**, v.36, n.2, p.561-567, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 13 de 30 de novembro de 2004. Regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. **Diário Oficial da União**, n. 41, 01 de março de 2002, Seção 1, p. 3-5. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=1374519258>>. Acesso em: 13 mar. 2015.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard—Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012a. Disponível em <<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/03-CLSI-M07-A9-2012.pdf>>
- CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**; Approved Standard—Eleventh Edition. CLSI document M02-A11. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012b. Disponível em <<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/01-CLSI-M02-A11-2012.pdf>>. Acesso em: 13 mar. 2015.

- DESAI, M.A.; PARIKH, J. Hydrotropic Extraction of Citral from *Cymbopogon flexuosus* (Steud.) Wats. **Industrial & Engineering Chemical Research**, v. 51, n. 9, p. 3750-3757, 2012.
- GANJEWALA, D. *Cymbopogon* essential oils: Chemical compositions and bioactivities. **International Journal of Essential Oil Therapeutics**, v. 3, p. 56-65, 2009.
- KAKARLA, S.; GANJEWALA, D. Antimicrobial activity of essential oils of four lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud.) varieties. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology- Global Science Books**, v. 3, n. 1, p. 107-109, 2009.
- KARADAS, F.; PIRGOZLIEV, V.; ROSE, S.P.; DIMITROV, D.; ODUGUWA, O.; BRAVO, D. Dietary essential oils improve the hepatic antioxidative status of broiler chickens. **British Poultry Science**, v. 55, n. 3, p. 329-334, 2014.
- MILLEZI, A.F.; CAIXETA, D.S.; ROSSONI, D.F.; CARDOSO, M.G.; PICCOLI, R.H. In vitro antimicrobial properties of plant essential oils *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* and *Laurus nobilis* against five important foodborne pathogens. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n.1, p. 167-172, 2012.
- NAIK, M.I.; FOMDA, B.A.; JAYKUMAR, E.; BHAT, J.A. Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacteria. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 1, n.1, p 535-538, 2010.
- OLIVEIRA, F.P., LIMA, E.O., SIQUEIRA JÚNIOR, J.P.; SOUZA, E.L.; SANTOS, B.H.C.; BARRETO, H.M. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham (Verbenaceae) essential oil inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. **Brazilian journal of Pharmacognosy** v.16, n.4, p 510-516, 2006.
- PINOTTI, R.N.; PAULILLO, L.F.O. A estruturação da rede de empresas processadoras de aves no Estado de Santa Catarina: governança contratual e dependência de recursos. **Gestão & Produção**, v. 13, n.1, p. 167-177, 2006.
- SANTOS, E.C.; TEIXEIRA, A.S.; FREITAS, R.T.F.; RODRIGUES, P.B.; DIAS, E.S.; MURGAS, L.D.S. Uso de aditivos promotores de crescimento sobre o desempenho, características de carcaça e bactérias totais do intestino de frangos de corte. **Ciência Agrotécnica de Lavras**, v. 29, n. 1, p. 223-231, 2005.
- SILVEIRA, S. M.; CUNHA JÚNIOR, A.; SCHEUERMANN, G. N.; SECCHI, F. L.; VIEIRA, C. R. W. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from selected herbs cultivated in the South of Brazil against food spoilage and foodborne pathogens. **Ciência Rural**, v.42, n.7, p.1300-1306, 2012.
- SOUZA, D. S.; ALMEIDA, A. C.; ANDRADE, V. A.; MARCELO, N. A.; AZEVEDO, I. L.; MARTINS, E. R. E FIGUEIREDO, L. S. 2015. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia organoides* e *Lippia roduntifolia* frente à enterobactérias isoladas de aves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 67:940-944.