

Análise *in vitro* da atividade antimicrobiana do extrato de *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry) e óleo essencial de *Origanum vulgare* (Orégano) frente à cepa de *Escherichia coli*

In vitro analysis of the antimicrobial activity of *Vaccinium macrocarpon* (Cranberry) extract and essential oil from *Origanum vulgare* (Oregon) in front of *Escherichia coli*

DOI:10.34117/bjdv6n9-451

Recebimento dos originais: 08/08/2020

Aceitação para publicação: 18/09/2020

Letícia Clementino Pereira Silva

Graduanda em Farmácia, Centro Universitário UNIFAVIP / WYDEN
Instituição: Discente do centro Universitário UNIFAVIP/WYDEN
Endereço: Av. Amapá, 197, Indianópolis, Caruaru-PE
E-mail: leticia.clementino@hotmail.com

João Victor de Lima Silva

Graduando em Farmácia, Centro Universitário UNIFAVIP/ WYDEN
Instituição: Discente do Centro universitário UNIFAVIP/WYDEN
Endereço: Rua Antônio Cosme, 393, Socorro, Lajedo-PE
E-mail: jvl5533@outlook.com

Thamyres Samara dos Santos Melo

Farmacêutica, Centro Universitário Tabosa de Almeida ASCES/ UNITA
Instituição: Indústria Química Farmacêutica Nacional SA
Endereço: Rua Vera Lúcia Maciel Cavalcante,71, Garanhuns-PE
E-mail: thamyressamara@hotmail.com

Daysiane Roberta Souza da Silva

Farmacêutica, Centro Universitário Tabosa de Almeida ASCES / UNITA
Instituição: Indústria Química Farmacêutica Nacional SA
Endereço: Av. Portugal, 1.330, Universitário, Caruaru-PE
E-mail: daysianeroberta7@gmail.com

Dayana Graziela Costa

Bióloga, Faculdade de Formação de Professores de Belo Jardim FABEJA
Farmacêutica, Centro Universitário Tabosa de Almeida ASCES / UNITA
Instituição: Indústria Química Farmacêutica Nacional SA
Endereço: Rua São João da Mata, 32, Nova Caruaru, Caruaru-PE
E-mail: dayanagrazielacosta@gmail.com

Tibério Cesar Lima de Vasconcelos

Mestre em Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco
Instituição: Docente, Centro Universitário UNIFAVIP / WYDEN
Endereço: Av. Margarida Peixoto Viêira, 96, Indianópolis, Caruaru-PE
E-mail: tiberiocesarvasconcelos@hotmail.com

RESUMO

As infecções por bactérias provocam 25% das mortes em todo o mundo e 45% nos países menos desenvolvidos. Tal situação, muitas vezes, é consequência da resistência bacteriana. O *Vaccinium macrocarpon*, conhecido como Cranberry, faz parte da família *Ericaceae*, as proantocianidinas do tipo A são as principais responsáveis pela atividade antibacteriana dessa planta, já que inibem a adesão das bactérias uropatogênicas ao trato urinário, principalmente a *Escherichia coli*. O *Origanum vulgare*, Orégano, é uma planta da família *Labiatae*, compostos fenólicos como carvacrol e timol são apontados como responsáveis pelas propriedades antimicrobianas da erva, por se tratarem de moléculas hidrofóbicas que modificam a estrutura da membrana celular dos microrganismos, causando a morte celular. Foi realizado um estudo experimental e quantitativo, com o objetivo de analisar in vitro a atividade antimicrobiana do extrato de Cranberry e do óleo essencial de Orégano frente à cepa de *Escherichia coli*, expressando os dados por meio de planejamento fatorial. Os efeitos combinados do orégano com Tween 80 (BC) foram preponderantes para redução na contagem de unidades formadoras de colônias para cepa *Escherichia coli* ATCC 8739. Dos efeitos isolados analisados (A) Concentração de Cranberry, (B) Óleo essencial de Orégano e (C) concentração de Tween 80, foi possível observar que apenas o óleo essencial de orégano e o Tween 80 apresentaram efeitos isolados significativos.

Palavras-chave: Cranberry, Orégano, *Escherichia coli*, Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Bacterial infections cause 25% of deaths worldwide and 45% in less developed countries. Such a situation is often a consequence of bacterial resistance. *Vaccinium macrocarpon*, known as Cranberry, is part of the *Ericaceae* family, proanthocyanidins type A is the main responsible for the antibacterial activity of this plant since they inhibit the adhesion of uropathogenic bacteria to the urinary tract, mainly *Escherichia coli*. *Origanum vulgare*, Oregano, is a plant of the *Labiatae* family, phenolic compounds such as carvacrol and thymol are pointed out as responsible for the antimicrobial properties of the herb because they are hydrophobic molecules that modify the structure of the cellular membrane of microorganisms, causing cellular death. An experimental and quantitative study was conducted in the purpose of analyzing in vitro the antimicrobial activity of Cranberry extract and the essential oil of oregano in front of the strain of *Escherichia coli*, expressing the data using factorial planning. The combined effects of oregano with Tween 80 (BC) were preponderant for the reduction in the count of colony-forming units for *Escherichia coli* strain ATCC 8739. From the isolated effects analyzed (A) Cranberry Concentration, (B) Oregano Essential Oil, and (C) Tween 80 concentration, it was observed that only oregano essential oil and Tween 80 presented significant isolated effects.

Keywords: Cranberry, Oregano, *Escherichia coli*, Antimicrobial activity.

1 INTRODUÇÃO

Em 1928, Alexander Fleming descobriu a penicilina, um antibiótico amplamente utilizado durante a Segunda Guerra Mundial pelo exército americano, que rendeu a Alexander o prêmio Nobel em 1945 e mudou totalmente o cenário da ciência, visto que a partir da descoberta, milhões de pessoas foram curadas e notou-se um maior incentivo à pesquisa e à produção industrial de antibióticos (PEREIRA; PITA, 2005).

Os antibióticos são substâncias que podem inibir o crescimento bacteriano, mantendo as bactérias na mesma fase estacionária (ação bacteriostática), e destruir uma colônia de bactérias (ação bactericida). De acordo com os mecanismos de ação, são divididos em: inibidores da síntese de folato, inibidores da síntese da parede celular, agentes da membrana celular bacteriana, inibidores da síntese proteica e os agentes do metabolismo bacteriano (KATZUNG et al., 2013).

É indiscutível a importância dos antibióticos no controle das infecções bacterianas, entretanto o uso indiscriminado dessa classe de medicamentos é uma realidade no meio ambulatorial, hospitalar e até mesmo doméstico. Tal conduta favorece a resistência dos microrganismos a essas substâncias e dificulta cada vez mais o tratamento de patologias causadas por agentes bacterianos, sendo um risco à saúde do indivíduo afetado e um elevado gasto com saúde pelo sistema público e privado (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

Uma alternativa para o tratamento de infecções bacterianas é o uso da fitoterapia. Segundo a RDC nº 26/2014, medicamentos fitoterápicos são aqueles provenientes exclusivamente de matérias-primas ativas vegetais, com segurança e eficácia comprovadas por meio de evidências clínicas. Algumas vantagens da sua utilização são: diminuição dos efeitos colaterais, menor preço, maior tolerância do paciente e adesão ao tratamento (ALMEIDA, 2017).

O cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) é uma fruta vermelha, originária da América do Norte, de sabor azedo, cultivada em florestas úmidas. Trata-se de uma matéria-prima vegetal de fácil acesso, apontada como nova alternativa para prevenção e até controle de infecções uropiteliais (SIMÕES; DE SOUZA, 2019).

Na década de 1980, estudos in vitro apontaram que o cranberry possui atividade inibitória em cerca de 80% da aderência bacteriana no urotélio. Ademais, possui uma substância antioxidante com 20 vezes mais potência que a vitamina C e 50 vezes mais potente que a vitamina E, chamada proantocianidina tipo A (GIRÃO; LORENZETTI; SIMÕES, 2011).

O orégano (*Origanum vulgare*) é uma erva utilizada como tempero na culinária, seu óleo essencial é composto predominantemente por fenóis, como carvacrol e timol. Esses compostos são responsáveis por lesar as membranas plasmáticas lipídicas das bactérias, impossibilitando a divisão

celular e desidratando as células (ARAÚJO; LONGO, 2016).

O objetivo geral deste estudo é analisar *in vitro* a atividade antimicrobiana do extrato de Cranberry e óleo essencial de Orégano frente à cepa de *Escherichia coli*, comparando a atividade antimicrobiana, frente a essa bactéria, de formulações contendo extrato de Cranberry, óleo essencial de Orégano e Tween 80, variando as concentrações de cada componente e analisando a interação entre eles, além de medir o pH das formulações e expressar os resultados por meio de análise estatística.

2 METODOLOGIA

2.1 TIPO DE ESTUDO:

O estudo é do tipo experimental, já que foi realizado em laboratório através de análise *in vitro* dos objetos de estudo, selecionando as variáveis capazes de influenciá-los e observando seus efeitos, também é do tipo quantitativo, pois os dados foram traduzidos através de estatística (FONTELLES et al., 2009).

2.2 LOCAL DA PESQUISA:

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico da INFAN/HEBRON® – Indústria Farmacêutica Química Nacional, localizada na cidade de Caruaru-PE.

2.3 MATERIAIS UTILIZADOS:

O extrato seco de Cranberry foi adquirido da farmácia de manipulação Perfecta®, situada em Caruaru-PE, o óleo essencial de Orégano, adquirido via internet da empresa FERQUIMA® e o Tween 80 será doado por um dos colaboradores da pesquisa.

2.4 CEPA MICROBIANA:

A cepa de *Escherichia coli* foi doada pelo Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico da INFAN/HEBRON®.

2.5 MEIO DE CULTURA:

O meio de cultura utilizado foi o Ágar Mueller-Hinton, doado por um dos colaboradores da pesquisa. O método de diluição do meio seguiu de acordo com o fabricante.

2.6 PREPARAÇÃO DO INÓCULO:

Foram utilizados 20 ml do meio Ágar Mueller-Hinton para semear a cepa de *E. coli*, sendo inoculada à 37°C por 24 horas em estufa bacteriológica. Após esse período, com o auxílio de um swab, as colônias foram transferidas para um tubo Falcon contendo solução de salina 0,9% até a turvação 0,5 de Mcfarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml) (CSLI, 2006).

2.7 PREPARAÇÕES DAS EMULSÕES:

As preparações das emulsões e das frações para análise antimicrobiana foram realizadas baseadas no estudo de SILVA; SILVA, VASCONCELOS, 2020. Sendo manipuladas 10 emulsões de acordo com a tabela 1, gerada a partir do Minitab 17, já que o planejamento fatorial utilizado foi do tipo 2^3 e o ponto central foi feito em duplicata, para permitir calcular o erro do experimento.

Tabela 1- Planejamento fatorial dos sistemas emulsionados

SISTEMA	CRANBERRY	ORÉGANO	TWEEN 80
1	1	-1	1
2	1	1	-1
3	-1	-1	1
4	-1	-1	-1
5	0	0	0
6	-1	1	-1
7	0	0	0
8	-1	1	1
9	1	1	1
10	1	-1	-1

Fonte: Autores.

As concentrações para o Cranberry foram estabelecidas de acordo com a taxa de proantocianidinas (PACs), sendo considerada como “-1” (Mínima) 0,36% de PACs; “0” (Média) 0,54% de PACs e “1” (Máxima) 0,72 de PACs, baseadas no estudo de CHIAVINI et al., 2019. Foi produzida uma solução-mãe em proporção 1:1 com 10 g de extrato de Cranberry em meio hidroalcoólico, sendo retirados 2 mL para as formulações com concentração máxima, 1,5 mL para média e 1 mL para mínima.

A concentração máxima do óleo de Orégano foi considerada como 1,5% (0,150 µL), a média como 1,12% (0,112 µL) e a mínima como 0,75% (0,075 µL), de acordo com os estudos de REIS et

al., 2020, CAMARGO; KOBAYSHI, 2015 e LEE; KIM; LEE, 2017. A concentração máxima do Tween 80 foi de 150 mg, a média de 77,5 mg e a mínima de 5 mg. Cada emulsão foi homogeneizada no vórtex.

2.8 PREPARAÇÕES DAS FRAÇÕES PARA ANÁLISE ANTIMICROBIANA:

Foram separados 10 tubos para a concentração 10^1 e 10 tubos para 10^2 . Para a concentração número 1, em cada tubo foram colocados 9 mL de água destilada estéril, a cepa de acordo com a escala de McFarland (0,5) e 1 mL de cada emulsão manipulada. Para a concentração número 2, foi realizado o mesmo procedimento descrito acima, só que com a cepa em escala de McFarland (1).

Após isso, foi realizado o método de incorporação em placa, separando-se 42 placas de petri. Foi inserido 1 mL de cada fração para a concentração número 1 em 20 placas e 1 mL de cada fração das concentrações de número 2 em 20 placas. Em seguida, 20 mL de ágar Mueller Hinton foram inclusos nas placas preparadas anteriormente, utilizando o método de Pour-Plate.

Para o controle positivo foi colocado 1 mL da bactéria de acordo com as respectivas escalas de McFarland e 20 mL de ágar Mueller Hinton; para o controle negativo, 20 mL de ágar Mueller Hinton. As placas foram invertidas e colocadas em estufa à 37°C por 24 hrs para contagem de colônias.

Cada emulsão foi colocada em microscópio óptico para ser visualizada. O pH foi medido utilizando fita reagente. Como o extrato de Cranberry apresentou-se em coloração muito forte, foi necessário produzir soluções a 10% de cada emulsão em meio hidroalcolico para ler os resultados.

2.9 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram analisados utilizando software Minitab 17.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

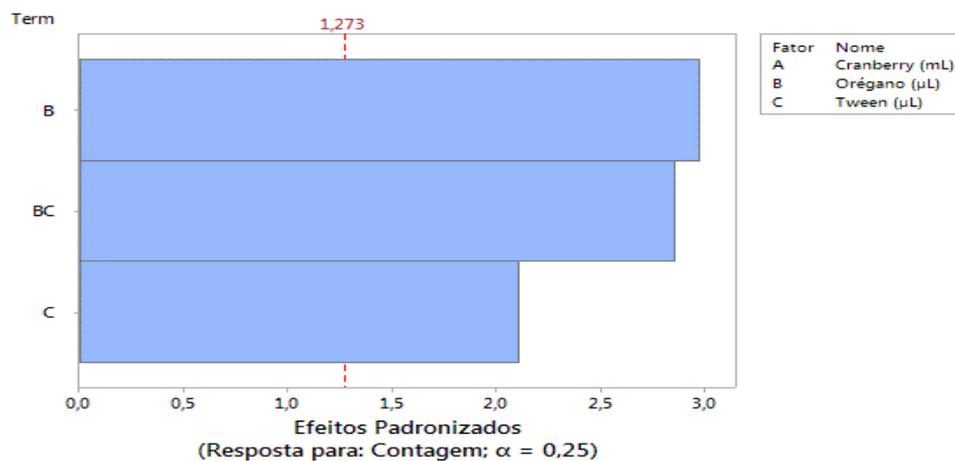
Na figura 1, podemos observar que os efeitos combinados do orégano com Tween 80 (BC) foram preponderantes para redução na contagem de unidades formadoras de colônias para cepa *Escherichia coli* ATCC 8739. Dos efeitos isolados analisados (A) Concentração de Cranberry, (B) Óleo essencial de Orégano e (C) concentração de Tween 80, podemos observar que apenas o óleo essencial de orégano e o Tween 80 apresentaram efeitos isolados significativos. Os efeitos sinérgicos dos elementos estudados são preponderantes aos efeitos isolados, pois um componente pode influenciar no mecanismo de ação do outro constituinte.

O Tween 80 é amplamente utilizado como emulsificante em formulações, entretanto outra

funcionalidade vem sendo apontada para esse componente, trata-se da diminuição das taxas de viabilidade e crescimento, e a inibição da formação de biofilme de alguns patógenos, incluindo *Escherichia coli* (NIELSEN et al., 2016).

A capacidade antimicrobiana do óleo essencial à base de *Origanum vulgare* (EUO), livre ou microencapsulado diluído com 10% (v/v) Tween 80, foi testada contra bactérias patogênicas (*Salmonella* sp., *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas fragi*, *Lactobacillus plantarum* e *Micrococcus luteus*). O composto na forma livre foi menos eficaz na inibição do crescimento bacteriano, o que pode ser atribuído ao aumento da solubilidade e biodisponibilidade (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ et al., 2014).

Figura 1 - Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para contagem de fundo de *E. coli* ATCC 8739



Fonte: Autores.

Na figura 2, observa-se o gráfico da análise dos efeitos isolados para as substâncias que apresentaram maior significância quanto à redução da contagem de microrganismos. O óleo essencial de orégano apresentou maior impacto. Já o Tween 80 apresentou um efeito neutro, não influenciando diretamente na redução da contagem.

No trabalho realizado por Silva, Silva e Vasconcelos, 2020, foi observado que a utilização do Tween 80 influenciava de forma inversa, quanto maior sua concentração, menor o número da redução da contagem de microrganismos. Baseado em outros estudos, os autores ainda apontaram que o Tween 80 por si só não apresentava atividade antimicrobiana (NASCIMENTO et al., 2007).

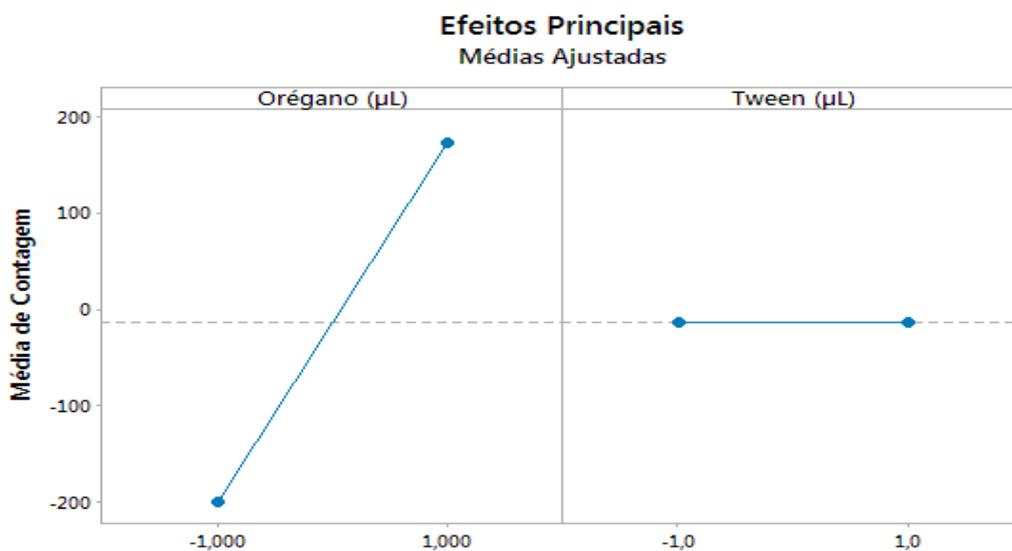
No estudo de SOUZA et al., 2016, o extrato de Cranberry foi utilizado na concentração de 64 mg/mL de proantocianidinas (PACs) e inibiu *Escherichia coli* na escala de 1 McFarland ($3,0 \times 10^8$ UFC/mL). No trabalho de CHIAVINI et al., 2019, o extrato da planta, na concentração de 5,03%

das PACs, inibiu $0,1 \times 10^8$ CFU.mL de um isolado de *E.coli* resistente a seis antibióticos. No presente estudo, a bactéria na escala padronizada de 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) foi totalmente inibida por todas as formulações, utilizando-se extrato padronizado de concentração igual a 36 de PACs.

CAMARGO; KOBAYSHI, 2015 comparou a atividade antimicrobiana do óleo essencial de orégano da Ferquima® contra *E. coli* CR 131. Na concentração de 0,06%, o óleo eliminou a cepa em 10 minutos. No estudo de REIS, 2020, a bactéria foi inibida pelo óleo na concentração de 1,0% a 4,0%. Neste estudo, o óleo essencial da Ferquima® inibiu totalmente a *E.coli* em 24 horas na escala de 0,5 MacFarland, em concentração mínima de 0,75%.

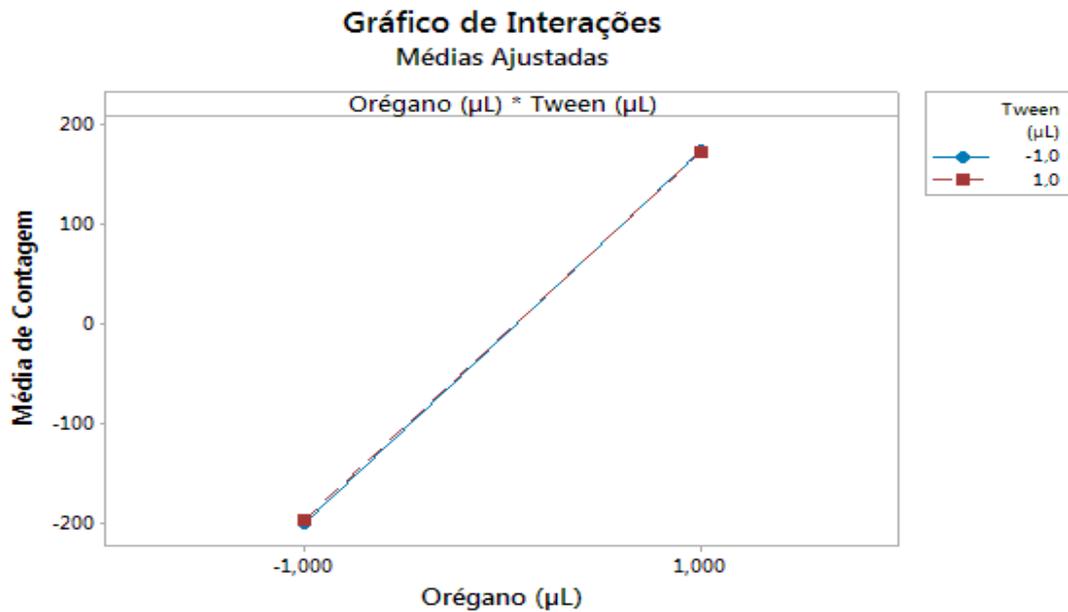
Comparando os resultados entre estudos envolvendo Cranberry e Orégano, é possível observar que a concentração mínima de óleo essencial capaz de inibir a bactéria em estudo é menor, comparada às concentrações de PACs do Cranberry, levando em consideração as concentrações de PACs utilizadas nas formulações, provenientes da solução-mãe. O fato de o Orégano ter sido utilizado na forma de óleo essencial, que é uma forma mais pura, e o Cranberry na forma de extrato seco, também pode ter influenciado no melhor desempenho do primeiro.

Figura 2 - Gráfico dos efeitos principais isolados para contagem de fundo de *E. coli* ATCC 8739



Fonte: Autores.

Na figura 3, observou-se que associando o óleo essencial de orégano e Tween 80 houve efeito combinado, o que ratifica o resultado apontado na figura 1, isto é, apesar do Tween 80 não apresentar efeito antimicrobiano isoladamente, quando na presença do óleo de orégano, acabou auxiliando na redução da contagem de microrganismos.

Figura 3 - Gráfico de interações para contagem de fundo de *E. coli* ATCC 8739

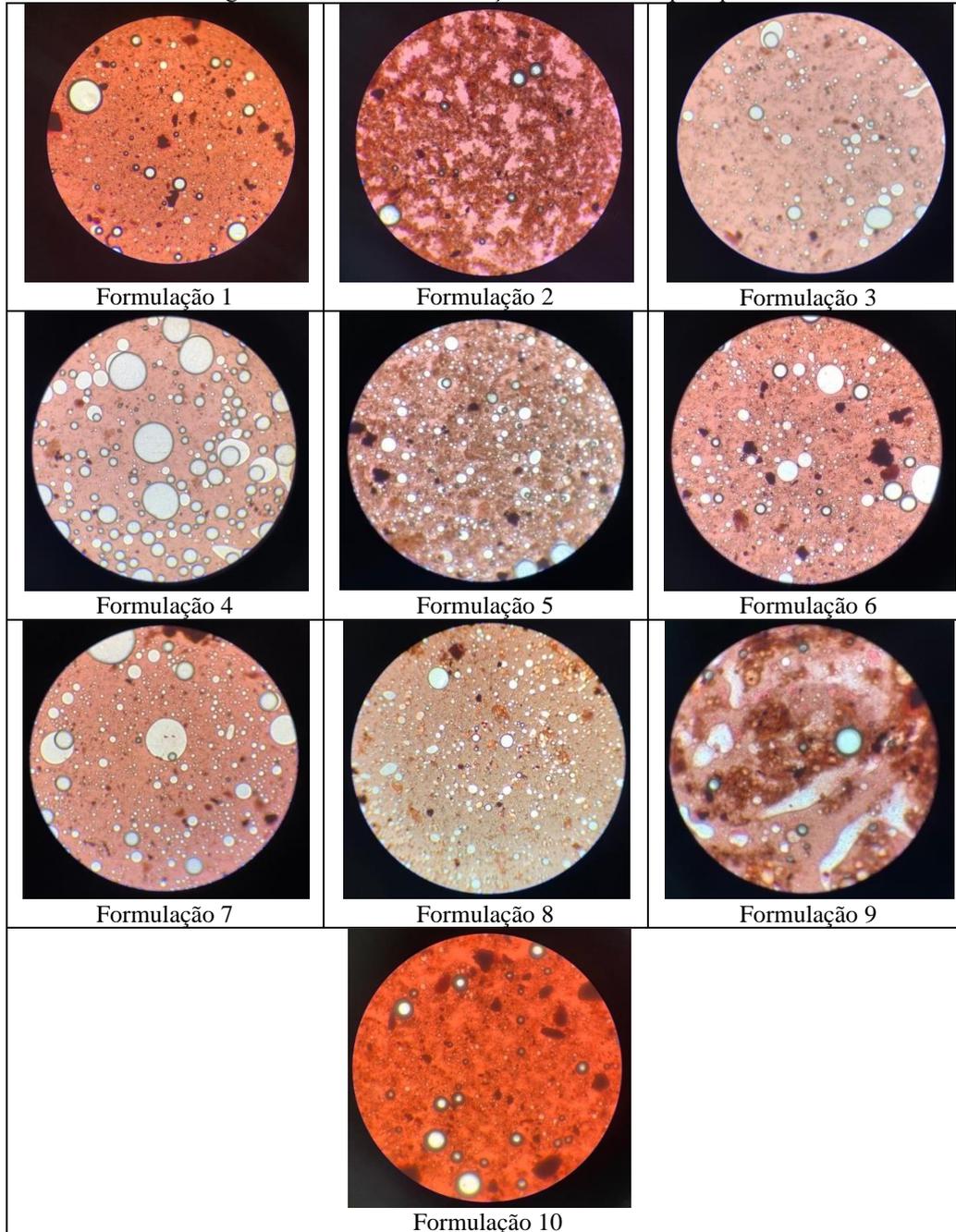
Fonte: Autores.

Equação de regressão para contagem de microrganismos:

$$\text{Contagem de microrganismos} = -13,37 + 186,3 \text{ Orégano } (\mu\text{L}) + 0,1529 \text{ Tween } (\mu\text{L}) - 1,695 \text{ Orégano } (\mu\text{L}) * \text{Tween } (\mu\text{L})$$

A equação de regressão auxilia a prever o comportamento da contagem de microrganismos quando submetidos à concentração dos componentes que apresentaram efeito significativo estatístico. O resultado da análise de regressão apresentou $R^2 = 67,09\%$ com $R^2(\text{adj}) = 50,64\%$ que ajuda a explicar o comportamento dos dados do modelo.

Figura 4 – Fotos das formulações em microscópio óptico

Formulação 10
Fonte: Autores.

O pH de todas as formulações se manteve entre 2,0 e 4,0. O mecanismo de ação do *Vaccinium macrocarpon* é atribuído pela conversão do ácido benzoico em ácido hipúrico, que diminui o pH da urina, levando à bacteriostase (ROLLO, 2014).

4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, foi possível notar a potencial atividade antimicrobiana do cranberry e do orégano em relação à *Escherichia coli*, principal patógeno envolvido em infecções

do trato urinário. O efeito do orégano na inibição foi mais significativo, o que pode ter ocorrido pelo fato de ser utilizado na forma de óleo essencial e em considerações consideravelmente altas, de acordo com os estudos relacionados. Foi observado também um sinergismo entre o orégano e o tween 80, apesar desse último ser apontado apenas como agente emulsionante em alguns estudos.

Para avaliar melhor os potenciais dos ativos, são válidas novas análises, principalmente com concentrações mais altas de PACs no extrato de Cranberry e aplicando formulações que anulem a presença de um dos componentes, para que seja possível avaliar a capacidade inibitória, de cada ativo isoladamente, frente à *E.coli*.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Luana de Assis Macêdo. Utilização da fitoterapia como alternativa para o tratamento de infecções bacterianas. 2017.
- ALVES, Rachel Anne de Souza et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de dentífricos contendo óleo de orégano e alecrim. 2019. 16 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina, Campina Grande (pb), 2019.
- ARAUJO, M. M. D.; Longo, P. L. Teste da ação antibacteriana in vitro de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Arquivos do Instituto Biológico, 83. 2016.
- BARBOSA, Luciana Araújo; LATINI, Ricardo Oliveira. Resistência bacteriana decorrente do uso abusivo de antibióticos: informações relevantes para elaboração de programas educativos voltados para profissionais da saúde e para a comunidade, 2012. Disponível em: . Acesso em: 21 de Abr. 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Anvisa. RDC 26 de 13 de maio 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. 2014.
- BUENO, Laysa Pimenta et al. Avaliação da capacidade antioxidante e antimicrobiana dos compostos fenólicos presentes em cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) desidratada e em medicamento fitoterápico usado na prevenção de infecções do trato urinário. 2019.
- CAMARGO, Larissa Ciappina; KOBAYSHI, Renata Katsuko Takayama. ANÁLISE DO EFEITO ANTIMICROBIANO DO ÓLEO DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*). 2015.
- CHIAVINI MS, Gelinski JMLN, Locatelli C, Costa PA, Vicente VA. In vitro inhibition of *Escherichia coli* from women with urinary tract infection by cranberry hydroalcoholic extract. *Revista Fitos*. Rio de Janeiro. 2019; 13(4): 278-288. e-ISSN 2446.4775.
- COSTA, Anderson Luiz Pena da; SILVA JUNIOR, Antonio Carlos Souza. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. *Estação Científica, Macapá*, v. 7, n. 2, p.45-57, maio 2017.
- CSLI. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. 7th ed. CLSI approved standard M7-A7. Pennsylvania; 2006.
- FONTELLES, Mauro José et al. Metodologia da pesquisa científica: diretrizes para a elaboração de um protocolo de pesquisa. *Revista paraense de medicina*, v. 23, n. 3, p. 1-8, 2009.
- GIRÃO, M.; LORENZETTI, F.; SIMÕES, R. Autoria: Sociedade Brasileira de Infectologia Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia Sociedade Brasileira de Nefrologia Sociedade Brasileira de Urologia. 2011.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, Elvia et al. Microencapsulation, chemical characterization, and antimicrobial activity of Mexican (*Lippia graveolens* HBK) and European (*Origanum vulgare* L.) oregano essential oils. *The Scientific World Journal*, v. 2014, 2014.

KATZUNG, B. G; MASTERS, S. B; TREVOR, A. J. Farmacologia Básica e Clínica. 12 ed. São Paulo: Artmed, 2013.

LEE, J.H.; KIM, Y.G.; LEE, J. Carvacrol rich oregano oil and thymol rich thyme red oil inhibit biofilm formation and the virulence of uropathogenic Escherichia coli. Journal of applied microbiology, v. 123, n. 6, p. 1420-1428, 2017.

NASCIMENTO, Paula F.c. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. Revista Brasileira de Farmacognosia, Sergipe, v. 1, n. 17, p.108-113, mar. 2007.

NIELSEN, Christina K. et al. Effects of Tween 80 on growth and biofilm formation in laboratory media. Frontiers in microbiology, v. 7, p. 1878, 2016.

OLIVEIRA, Maísa Soares de. Atividade antimicrobiana e efeito interativo in vitro de produtos de Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) e quinolonas. 2015.

PEREIRA, Ana Leonor; PITA, João Rui. ALEXANDER FLEMING (1881-1955): Da descoberta da penicilina (1928) ao Prémio Nobel (1945). Revista da Faculdade De Letras, Porto, v. 6, p.129-151, 2005.

REIS, Juliana Borges et al. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares/Evaluation of antimicrobial activity of essential oils against food pathogens. Brazilian Journal of Health Review, v. 3, n. 1, p. 342-363, 2020.

ROLLO, Ana Cristina Castro de Almeida. O sumo de arando e a sua utilidade na criança com infecção urinária. 2014. 38 f. Monografia (Mestrado Integrado em Medicina) - Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Portugal.

SILVA, Morghana Rodrigues e; SILVA, Monique Isabel da; VASCONCELOS, Tibério Cesar Lima de. Sistema Emulsionado contendo Óleo Essencial de Mentha Piperita e Rosmarinus Officinalis com atividade antimicrobiana frente à Escherichia Coli de Atcc 25922. Farmácia e Promoção da Saúde. Ponta Grossa-PR, p. 57-67. 2020. Atena Editora. Disponível em: . Acesso em: 04 abr. 2020.

SIMÕES, Ludmila Pini; DE SOUZA, Louremi Bianchi Gualda. Avaliação “In Vitro” da atividade antibacteriana em sucos de Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) sobre cepas de Escherichia Coli responsáveis por Infecção Urinária. RBAC, v. 51, n. 2, p. 154-6, 2019.2122.

SOUZA, Carla Franco Porto Belmontet al. Efeito antimicrobiano do extrato de Cranberry sobre micro-organismos causadores de infecção urinária. Cadernos UniFOA, v. 11, n. 31, p. 113-122, 2016.