

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA - PR
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

JOÃO GABRIEL NETO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
***Mentha x piperita* (LAMINACEAE) CONTRA BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA**
MÉDICA E VETERINÁRIA

REALEZA

2026

JOÃO GABRIEL NETO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Mentha x piperita (LAMINACEAE) CONTRA BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA
MÉDICA E VETERINÁRIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Médico Veterinário.

Orientador: Prof. Dr. Fagner Luiz da Costa Freitas

REALEZA

2026

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Gabriel Neto, João
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO
ESSENCIAL DE MENTHA X PIPERITA (LAMINACEAE) CONTRA
BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA MÉDICA E VETERINÁRIA / João
Gabriel Neto. -- 2026.
24 f.

Orientador: Prof. Dr. Fagner Luiz da Costa Freitas

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina Veterinária, Realeza, PR, 2026.

1. Fitoterapia. 2. Medicina Veterinária. 3.
Bactérias. 4. Hortelã-Pimenta. 5. Óleo essencial. I.
Freitas, Fagner Luiz da Costa, orient. II. Universidade
Federal da Fronteira Sul. III. Título.

JOÃO GABRIEL NETO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Mentha x piperita (LAMINACEAE) CONTRA BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA
MÉDICA E VETERINÁRIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Médico Veterinário.

ESTE TRABALHO FOI DEFENDIDO E APROVADO PELA BANCA EM 25/06/2026.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fagner Luiz da Costa Freitas – UFFS
Orientador

Prof^ª. Dra. Dalila Moter Benvegnu – UFFS
Avaliador

Prof. Dr. Jonatas Cattelam – UFFS
Avaliador

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todas as bênçãos em minha vida e por ter me proporcionado à chegada a esta etapa. À minha esposa Isabel por todo apoio incondicional durante toda a trajetória acadêmica. Aos meus pais, Lara Mazon e João Gabriel por sempre estarem ao meu lado dando todo o suporte e auxílio necessário e a minha família, aos meus queridos amigos que a graduação e Realeza me proporcionaram. Ao meu querido professor e orientador Dr. Fagner e também ao futuro colega de profissão M.v Paulo Henrique Figueiredo, por todo apoio, conselhos e consultoria durante o projeto, e, por fim, a todos os professores e servidores cujos caminhos se cruzaram nesta caminhada.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Perfil cromatográfico do óleo essencial de Hortelã-pimenta (<i>Mentha-piperita</i>) fornecido pela empresa WL Ltda.....	16
Tabela 2 – Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Perfil de ação do óleo essencial de hortelã pimenta (OEH) (<i>Mentha piperita</i>) contra cepas padrões de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>Streptococcus uberis</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> e <i>Bacillus cereus</i>	18

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OEH	Óleo Essencial de Hortelã-pimenta
BHI	Brain Infusion Broth
CMH	Caldo Mueller Hinton
OES	Óleos essenciais
DO	Densidade Óptica
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CBM	Concentração Bactericida Mínima

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
2.1 CULTURAS E MICRORGANISMOS.....	12
2.2 PADRONIZAÇÃO DO INÓCULO.....	12
2.3 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) E CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM).....	12
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	13
2.5 PERFIL CROMATOGRÁFICO.....	13
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
4 CONCLUSÃO.....	20
5 REFERÊNCIAS.....	21

RESUMO

O uso de antibióticos de forma indiscriminada e irresponsável representa hoje um grande desafio tanto para a Medicina como para a Medicina Veterinária, o surgimento de cepas bacterianas resistentes às terapias convencionais fazem com que seja necessária a busca por novas opções terapêuticas para o tratamento de doenças infecciosas que oferecem risco à saúde única, entre elas, se destaca a fitoterapia. Atualmente, diversas plantas vêm sendo estudadas quanto à sua ação antimicrobiana, o óleo essencial de Hortelã-pimenta (*Mentha-piperita*), planta pertencente a família Laminaceae, possui em sua composição compostos como o mentol e a mentona, que destacam-se pois possuem diversas aplicações terapêuticas, dentre elas, anti-inflamatória, antimicrobiana, antifúngica, antioxidante e analgésicas. No presente estudo, foi utilizado o óleo essencial de Hortelã-pimenta contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus cereus*, patógenos que possuem grande importância para a medicina e para a medicina veterinária. O trabalho foi realizado entre Maio de 2025 a Abril de 2026, na Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Realeza, PR, Brasil. Após a padronização do inóculo, realizou-se ensaios para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) em triplicata e seus resultados foram analisados através do método de análise estatística descritiva. Os valores obtidos de CIM e CBM variaram entre 0,04882% e 0,78125% frente a todas as cepas de patógenos avaliados, revelando, por meio da razão CBM/CIM um perfil, predominantemente, bactericida. As cepas de *E. faecalis* e *B. cereus*, apresentaram menor concentração bactericidas (CBM 0,78125%); a análise da CIM revelou que as bactérias do gênero *Streptococcus* apresentaram maior sensibilidade ao screening inibitório. Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que o óleo essencial apresentou atividade antibacteriana frente as cepas bacterianas avaliadas, evidenciada pelos valores de CIM e CBM observados. A variação na sensibilidade entre os microrganismos indica que a eficácia do óleo essencial depende da espécie bacteriana analisada. Dessa forma, o óleo essencial mostra-se um potencial candidato para o desenvolvimento de produtos com atividade antimicrobiana para fins medicinais.

Palavras-chave: Hortelã-pimenta, Antimicrobianos naturais, óleo essencial, Fitoterapia, Resistência bacteriana.

ABSTRACT

The indiscriminate and irresponsible use of antibiotics today represents a major challenge for both human and veterinary medicine. The emergence of bacterial strains resistant to conventional therapies makes it necessary to search for new therapeutic options for the treatment of infectious diseases that pose a risk to One Health; among these, phytotherapy stands out. Currently, several plants are being studied for their antimicrobial action. Peppermint essential oil (*Mentha-piperita*), a plant belonging to the Lamiaceae family, contains compounds such as menthol and menthone, which stand out because they have several therapeutic applications, including anti-inflammatory, antimicrobial, antifungal, antioxidant, and analgesic properties. In this study, peppermint essential oil was used against strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, and *Bacillus cereus*, pathogens of great importance to human and veterinary medicine. The work was carried out between May 2025 and April 2026 at the Federal University of the Southern Frontier (UFFS), Realeza Campus, PR, Brazil. After standardization of the inoculum, assays were performed in triplicate to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC), and the results were analyzed using descriptive statistical analysis. The MIC and MBC values obtained ranged from 0.04882% to 0.78125% against all evaluated pathogen strains, revealing, through the MBC/MIC ratio, a predominantly bactericidal profile. *E. faecalis* and *B. cereus* strains showed lower bactericidal concentrations (MBC 0.78125%); MIC analysis revealed that bacteria of the genus *Streptococcus* showed greater sensitivity to inhibitory screening. The results obtained in this study demonstrated that the essential oil exhibited antibacterial activity against the evaluated bacterial strains, evidenced by the observed MIC and MBC values. The variation in sensitivity among microorganisms indicates that the efficacy of the essential oil depends on the bacterial species analyzed. Thus, the essential oil shows itself as a potential candidate for the development of products with antimicrobial activity for medicinal purposes.

Keywords: Peppermint, Natural antimicrobials, Essential oil, Phytotherapy, Bacterial resistance.

1 INTRODUÇÃO

A hortelã-pimenta é uma planta amplamente conhecida devido ao seu uso na culinária, nas indústrias de cosméticos e terapêutica (Adel *et al.*, 2014; Melo *et al.*, 2024). Originária da Ásia e apresentando cultivo disseminado mundialmente em regiões com condições ambientais favoráveis. No Brasil, possui ampla distribuição geográfica, estando presente em, praticamente, todo território nacional (Brasil, 2015).

De acordo com Ferreira *et al.* (2023), a hortelã-pimenta (*Mentha-piperita*) é uma planta híbrida natural, resultante do cruzamento entre a *Mentha-spicata* e *Mentha-aquatica*, sendo produtora de terpenóides e considerada uma importante fonte de mentol, principal composto bioativo responsável por seus diversos efeitos terapêuticos.

Morfologicamente a *Mentha-piperita* é classificada como uma planta herbácea, perene, com altura entre 50 a 90 centímetros, apresentando folhas pecioladas com coloração verde-escura à verde clara, com bordas serrilhadas possuindo um aroma mentolado característico (Singh, 2011).

Segundo Freire *et al.* (2014), diversas plantas e seus respectivos subprodutos, como os óleos essenciais, têm sido avaliados quanto ao seu potencial antimicrobiano, destacando-se plantas da família Laminaceae por sua notável riqueza em compostos voláteis em sua composição.

Diante do aumento constante de cepas multirresistentes às terapias convencionais resultando do uso indiscriminado e inadequado de antimicrobianos, surge a necessidade de novas abordagens terapêuticas eficazes. Nesse contexto, quando os tratamentos convencionais não apresentam a eficácia esperada, torna-se fundamental a busca por novas alternativas viáveis (Da Cruz *et al.*, 2024). Desse modo, os fitoterápicos vêm ganhando destaque tanto na medicina humana quanto na veterinária, impulsionados sobretudo pelo uso de óleos essenciais, a exemplo do óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha x piperita*) (OEH).

O OEH apresenta composição química complexa, sendo rico em monoterpenos, como mentol, mentona e acetato de mentila, além de conter aproximadamente 300 compostos voláteis, principalmente ésteres, cetonas e óxidos terpênicos. Entre os principais compostos orgânicos voláteis presentes no OEH, destacam-se o 1,8-cineol, limoneno, acetato de trans-mentila e hidrato de trans-sabineno. Além disso, podem estar presentes compostos como mentofurano e pulegona, considerados potencialmente hepatotóxicos e, portanto, indesejáveis em elevadas concentrações (Tullio *et al.*, 2019; Silva, 2024).

Adel *et al.* (2024) ressalta que um dos principais fatores que confere valor e qualidade ao OEH é a presença do mentol e mentona, compostos que contribuem para suas diversas

aplicações e propriedades biológicas, incluindo atividades antimicrobiana, antifúngica, antioxidantes, anti-inflamatórias e analgésicas. Esses compostos vêm sendo estudados no combate a doenças infecciosas que representam risco à saúde única, causadas por microrganismos com resistência amplamente conhecida. (Parrey *et al.*, 2023; Melo *et al.*, 2024).

Os óleos essenciais atuam inibindo processos enzimáticos das bactérias através de seus compostos químicos, onde há pouca resistência por parte das bactérias (Nascimento *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2022). Podem também interferir na dupla camada fosfolipídica da parede celular das bactérias e, por fim, agem através do aumento da permeabilidade celular, causando perda dos constituintes celulares, ruptura celular e morte bacteriana (Farinha *et al.*, 2008; Sarto, 2011;).

Diante desse panorama, a busca por alternativas terapêuticas para o enfrentamento da resistência microbiana tornou-se uma prioridade em saúde única. Nesse contexto, os óleos essenciais (OEs) emergem como candidatos promissores devido às suas complexas propriedades biológicas. Assim, a presente pesquisa fundamenta-se na avaliação do potencial antimicrobiano do OEH contra cepas-padrão de microrganismos de interesse médico e veterinário, incluindo *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus uberis*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus cereus*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no período de Maio de 2025 a Abril de 2026, na Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Realeza, PR, Brasil. O óleo essencial utilizado foi fornecido pela empresa Essencial WL Ltda.

2.1 CULTURAS E MICRORGANISMOS

Foram usadas cepas padrões de *Pseudomonas aeruginosa* NP0053, *Shigella flexneri* NP0122, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes* NP0015, *Enterococcus faecalis* NP0022 e *Bacillus cereus*, provenientes do Laboratório de Pesquisa NB2 da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Realeza, PR, Brasil.

2.2 PADRONIZAÇÃO DO INÓCULO

As culturas previamente estocadas em ultrafreezer (-85°C) em caldo BHI (Brain Infusion Broth) glicerinado (60%) foram reativadas e enriquecidas em BHI. Posteriormente, foram transferidas para caldo Mueller Hinton (CMH) e padronizadas para turbidez equivalente 0,5 da escala de McFarland, correspondendo a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

2.3 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) E CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM)

A CIM é definida como a menor concentração de um composto para inibir o crescimento de um determinado microrganismo, trata-se de um parâmetro farmacodinâmico quase hegemônico, de modo que em diversas ocasiões torna-se o único a ser utilizado para projetar a antibioticoterapia (Udekwa *et al.*, 2009).

É conhecido que o método de preparação do inóculo, bem como tipo de meio utilizado, tamanho do inóculo, temperatura e tempo de incubação podem influenciar nos valores de CIM, devido a isso houve padronização do teste conforme as diretrizes do Clinical Laboratory Standards Institute com modificações (CLSI, 2024).

O ensaio foi realizado por meio de diluições seriadas, em que cada poço continha metade da concentração do óleo essencial (OEH) em relação ao poço anterior. A pipetagem do inóculo foi ajustada a 0,5 na escala de McFarland, e a absorbância inicial foi medida em espectrofotômetro na densidade óptica (D.O) de 625 nm. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa de crescimento microbiológico a $36^\circ\text{C} \pm 2$ por 24 horas, com posterior leitura em espectrofotômetro na D.O de 625 nm.

A CIM foi representada pela diferença na absorbância dos OEs na leitura final em comparação com a leitura inicial no espectrofotômetro. Tal diferença indica o crescimento e consequentemente a viabilidade da cepa. Para uma confirmação da CIM, foi utilizado a resazurina como indicador de crescimento. Quando a resazurina (azul) não for reduzida a resorufina (rosa) fica constatado o efeito inibitório, e quando o corante sofreu modificação para a cor rosa, indicou uma reação de óxido-redução evidenciando a viabilidade celular. A mudança de coloração do azul para rosa foi registrada como crescimento bacteriano (Reller *et al.*, 2009; Schumacher *et al.*, 2024). Os procedimentos foram realizados em triplicata e o resultado se deu por média aritmética simples.

A CBM é a estimativa mais comum para avaliar a atividade bactericida e é definida como a menor concentração de um composto capaz de produzir 98% - 99,99% de efeito letal quando comparado a população microbiana inicial (CLSI, 1999). O teste do CBM foi realizado a partir dos poços onde não houve crescimento no CBM. Aliquotas com 10 μ L (microlitros) foram semeadas em ágar Mueller Hinton (AMH), seguido de incubação a 35 $\pm$ 2°C/24h realizada em triplicata. Após incubação foram enumeradas as unidades formadoras de colônias (UFC). A concentração mais baixa na qual não houve crescimento bacteriano visível em ágar foi considerado o CBM.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os ensaios para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) foram realizados em triplicata experimental independente. Assim, os dados obtidos tiveram suas análises realizadas através do método de estatística descritiva. Devido à natureza discreta das diluições seriadas (escala geométrica de fator 2) e à ocorrência de reprodutibilidade analítica absoluta entre as réplicas (100% de concordância interensaio), os resultados foram expressos diretamente pelos seus valores numéricos absolutos devido ao desvio padrão obtido ser igual a zero. Adicionalmente, para a determinação do potencial bactericida ou bacteriostático do óleo essencial de *Mentha-piperita* (OEH), calculou-se a razão CBM/CIM, onde ao apresentar resultado menor ou igual a 4, teve sua classificação determinada como bactericida, bem como; ao apresentar resultado maior que 4; classificou-se como bacteriostático.

2.5 PERFIL CROMATOGRÁFICO

A análise do perfil cromatográfico cedido pela empresa WL Ltda. do OEH evidenciou uma maioria de monoterpenos oxigenados, sendo o mentol o componente majoritário, com

41,8% do total. Outros constituintes relevantes foram a mentona (17,9%), a isomentona (7,5%) e o acetato de metila (5,8%), os quais perfazem, conjuntamente, 73% dos compostos identificados na amostra (Tabela 1).

Tabela 1 – Perfil cromatográfico do óleo essencial de Hortelã-pimenta (*Mentha-piperita*) fornecido pela empresa Essencial WL Ltda.

Principais constituintes	Área Relativa (%)
Mentol	41,8
Mentona	17,9
Isomentona	7,5
Acetato de metila	5,8
Total	73%

Fonte: Disponibilizado pela empresa WL Ltda.

Conforme dados analisados na tabela 1, observamos o mentol como o componente de maior destaque, por apresentar-se em maior quantidade, confirmando a descrição feita na literatura científica, nas quais as descrevem como sendo o principal constituinte químico do óleo essencial de *Mentha-piperita* (Gardiner, 2000; Santos, 2011), sendo responsável pelas propriedades antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e analgésica (Hudz *et al.*, 2023). Além disso, o mentol possui uma grande capacidade de alterar a permeabilidade da membrana celular de microrganismos, o que torna mais favorável a perda de componentes intracelulares essenciais complementando a morte celular (Camele, 2021).

A mentona também desempenha papel importante na atividade biológica do óleo essencial atuando sinergicamente com o mentol, potencializando a ação antimicrobiana por meio da desestabilização das membranas celulares bacterianas (Iskan *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2011). A presença de 17,9% de mentona aponta que a amostra analisada apresenta composição química compatível com óleos essenciais de alta qualidade comercial.

A isomentona, encontrada em concentração de 7,5%, é um isômero estrutural da mentona contribuindo também com propriedades antimicrobianas e aromáticas do óleo. Apesar de se encontrar em menor proporção, tem-se grande influência de maneira positiva na atividade biológica global do produto, devido aos efeitos sinérgicos observados entre os diferentes terpenoides presentes nos óleos essenciais. (Shelepova *et al.*, 2021).

O acetato de metila, identificado em concentração de 5,8%, é um composto que tornam mais evidentes às características aromáticas da Hortelã-pimenta. Considerando que a sua atividade antimicrobiana tem menor expressividade quando comparada à do mentol e da mentona, sua presença pode contribuir para a estabilidade química do óleo e para interações sinérgicas entre os constituintes (Alves, 2024).

De modo geral, a composição observada demonstra um perfil químico característico da espécie *Mentha-piperita*, sendo de maior predominância os compostos responsáveis por apresentar ação antimicrobiana. Esse resultado sugere um elevado potencial biológico do óleo essencial avaliado, justificando sua investigação frente a diferentes microrganismos patogênicos (Parrey *et al.*, 2023; Melo *et al.*, 2024).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de CIM e CBM obtidos para o óleo essencial de *Mentha-piperita* (OEH) frente às cepas bacterianas testadas estão apresentados na Tabela 2. O OEH exibiu atividade antibacteriana frente a todas as cepas do painel de patógenos avaliado, com valores de CIM variando entre 0,04882% a 0,78125% (Tabela 2).

Tabela 2 – Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Perfil de ação do óleo essencial de hortelã pimenta (OEH) (*Mentha piperita*) contra cepas padrões de *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus uberis*, *S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus cereus*.

BACTÉRIAS	OEH		PERFIL
	CIM (%)	CBM (%)	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> NP0053	0,78125	3,125	Bactericida
<i>Shigella flexneri</i> NP00122	0,78125	1,5625	Bactericida
<i>S. uberis</i>	0,390625	1,5625	Bactericida
<i>S. agalactiae</i>	0,09765	6,25	Bacteriostático
<i>S. pyogenes</i> NP0015	0,04882	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> NP0022	0,78125	0,78125	Bactericida
<i>Bacillus cereus</i>	0,195312	0,78125	Bactericida

Fonte: Autor

A análise descritiva da CIM revelou que cepas pertencentes ao gênero *Streptococcus* apresentam maior sensibilidade ao screening inibitório. A espécie *S. pyogenes* NP0015 destacou-se como a cepa mais sensível, exigindo a menor CIM do estudo (0,04882%), seguida por *S. agalactiae* (0,09765%) e *Bacillus cereus* (0,19531%). Em contrapartida, uma menor susceptibilidade inicial foi observada para as bactérias Gram-negativas sendo elas *Pseudomonas aeruginosa* e *Shigella flexneri*, bem como para a Gram-positiva *Enterococcus faecalis*, as quais compartilharam o maior valor de CIM registrado (0,78125%).

No que concerne à CBM, os resultados demonstraram que o OEH foi capaz de exercer efeito letal sobre a maioria dos organismos dentro das faixas testadas, tendo menores concentrações bactericidas para *E. faecalis* e *B. cereus*, ambos com CBM de 0,78125%.

Embora o *S. agalactiae* tenha demonstrado alta sensibilidade na fase de inibição (CIM de 0,09765%), este microrganismo demandou a maior concentração do óleo para a eliminação total de sua viabilidade celular, com uma CBM de 6,25%. Não foi possível determinar o valor final de CBM para o *S. pyogenes* dentro do intervalo analítico avaliado.

A avaliação da ação do OEH por meio da razão CBM/CIM evidenciou um perfil, predominantemente, bactericida contra a maioria dos patógenos testados. Para as cepas *P. aeruginosa* (razão = 4), *S. flexneri* (razão = 2), *S. uberis* (razão = 4), *E. faecalis* (razão = 1) e

B. cereus (razão = 4), o OEH atuou de forma letal definitiva. Contudo, frente ao *S. agalactiae*, a razão CBM/CIM foi igual a 64, sugerindo que, para este patógeno específico, o óleo essencial exerce um efeito, majoritariamente, bacteriostático, demandando incrementos significativos de concentração para atingir a atividade bactericida.

Resultados semelhantes foram relatados por Da Silva Nonato *et al.* (2023) ao avaliarem a eficácia da *Mentha x piperita* L. contra *S. aureus* e *E. coli*. Mesmo utilizando cepas bacterianas diferentes das testadas nesta pesquisa, os autores evidenciaram o potencial bacteriostático e bactericida do óleo essencial, o qual atuou em concentrações inibitórias distintas para cada espécie. Tal similaridade de resultados ratifica o potencial biotecnológico do OEH como agente antimicrobiano de amplo espectro. Os resultados obtidos para a CIM e a CBM evidenciaram que o OEH apresentou atividade antimicrobiana em relação a todas as cepas bacterianas avaliadas.

Observou-se que a menor CIM foi registrada para *Streptococcus pyogenes* (0,04882%), mostrando que o nível de sensibilidade desta bactéria ao óleo essencial; referente a outras espécies testadas, foi de maior impacto. Esses resultados tornam-se um indicativo de que concentrações extremamente baixas do óleo foram suficientes para inibir o crescimento bacteriano, demonstrando elevado potencial antimicrobiano contra esse patógeno dados também analisados no estudo de Da Silva, Mello, (2021).

A segunda maior sensibilidade foi observada em *Streptococcus agalactiae*, cuja CIM foi de 0,09765%. Este resultado é particularmente relevante considerando que essa bactéria está frequentemente associada a processos infecciosos em animais e seres humanos. Outrossim torna-se evidente que seja necessária uma baixa concentração para que ocorra a inibição do crescimento, indicando uma forte ação do óleo essencial sobre microrganismos Gram-positivos (Mahboubi, 2012; Kharysh, 2020).

A bactéria *Bacillus cereus* também apresentou elevada sensibilidade, com CIM de 0,195312% e CBM de 0,78125%. A diferença consideravelmente pequena entre CIM e CBM indica que, além de inibir o crescimento bacteriano, o óleo possui capacidade bactericida contra esta espécie. (Talab *et al.*, 2025)

Em relação ao *Streptococcus uberis*, foi observada CIM de 0,390625% e CBM de 1,5625%. Apesar de ser essencial que contenham valores mais altos ao se comparar com os demais estreptococos avaliados, o OE ainda demonstrou atividade antimicrobiana significativa. Sendo este um dos resultados de suma importância para a medicina veterinária, uma vez que *S. uberis* é um dos principais agentes etiológicos da mastite bovina. (Schukken *et al.*, 2014; Alves, 2021).

As cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella flexneri* e *Enterococcus faecalis* apresentaram CIM idêntica de 0,78125%, indicando menor sensibilidade ao OE, entretanto, mesmo nesses casos, a atividade antimicrobiana permaneceu evidente.

Dentre as demais, a bactéria que teve seu maior destaque nos estudos foi a *Pseudomonas aeruginosa*, sendo bastante conhecida por possuir uma grande resistência intrínseca a diversos antimicrobianos (Pottier *et al.*, 2023). Portanto torna-se necessário que haja uma concentração mais elevada para inibição, pois a complexidade estrutural da parede celular dessa bactéria Gram-negativa, faz com que seja de maior dificuldade a penetração de compostos antimicrobianos. Além de possuir mecanismos adicionais de resistência, como bombas de efluxo e formação de biofilmes (Vargas *et al.*, 2021).

Da mesma forma, *Shigella flexneri* apresentou CIM de 0,78125% e CBM de 1,5625%, indicando resistência moderada quando comparada às bactérias Gram-positivas avaliadas. Esse comportamento é típico de bactérias Gram-negativas, que apresentam membrana externa rica em lipopolissacarídeos, que tem como funcionalidade uma barreira física contra agentes antimicrobianos (Sun *et al.* 2022).

Já *Enterococcus faecalis* apresentou CIM e CBM idênticas (0,78125%), dando entendimento de que a concentração necessária para impedir o crescimento bacteriano foi suficiente também para promover a morte celular. Esse resultado demonstra um forte efeito bactericida do OE sobre essa espécie (Ferreira *et al.*, 2023).

Um aspecto importante observado foi que *Streptococcus pyogenes*, o qual exibiu apenas valor de CIM, não sendo determinada a CBM. O que denota que, embora o óleo tenha sido demasiadamente eficiente em inibir o crescimento bacteriano, não foi possível determinar a concentração mínima capaz de promover efeito bactericida nas condições experimentais adotadas.

De forma geral, os resultados demonstram que o OEH denotou atividade antimicrobiana bastante convincente no que diz respeito as cepas bacterianas avaliadas. A maior eficácia foi observada contra bactérias Gram-positivas, especialmente *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae* e *Bacillus cereus*, enquanto as bactérias Gram-negativas apresentaram maior resistência relativa.

Esse comportamento está de acordo com a literatura que relata maior susceptibilidade de bactérias Gram-positivas aos OE, por não possuir a membrana externa característica das Gram-negativas. Tal estrutura atua como uma barreira adicional, dificultando a difusão dos compostos hidrofóbicos presentes nos OE.

Os grandes níveis presentes de mentol e mentona observada no perfil cromatográfico provavelmente desempenhou papel fundamental nos resultados obtidos, uma vez que esses

compostos são amplamente reconhecidos por sua capacidade de comprometer a integridade da membrana celular bacteriana e intervir em processos metabólicos essenciais (Sarto, 2011; Farinha *et al.*, 2008).

Dessa forma, os dados obtidos reforçam o potencial do óleo essencial de *Mentha-piperita* como alternativa promissora para o controle de microrganismos patogênicos, especialmente diante do crescente aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos convencionais. Os resultados também sugerem a possibilidade de futuras aplicações na medicina veterinária, na produção animal e no desenvolvimento de produtos antimicrobianos de origem natural.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o óleo essencial apresenta atividade antibacteriana frente as cepas bacterianas avaliadas, evidenciada pelos valores de CIM e CBM observados. A variação na sensibilidade entre os microrganismos indica que a eficácia do OEH depende da espécie bacteriana analisada. Dessa forma, o óleo essencial mostra-se um potencial candidato para o desenvolvimento de produtos com atividade antimicrobiana para fins medicinais.

5 REFERÊNCIAS

- ADEL, Milad; *et al.* Dietary *Mentha piperita* essential oil loaded in chitosan nanoparticles mediated the growth performance and humoral immune responses in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 145, p. 109321, 2024.
- ALVES, Thâmela; *et al.* Mastite bovina: Tratamento convencional e ação de compostos extraídos de plantas. **Uniciências**, v. 25, n. 1, p. 20-25, 2021.
- ALVES, Karine Benitez Ramos; *et al.* Propriedades químicas e farmacológicas do óleo volátil de *Mentha piperita* L: revisão bibliográfica. **Anuário Universidade Federal de Santa Catarina**, 2019.
- BALOURI, Mounyr; *et al.* Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of pharmaceutical analysis**, v. 6, n. 2, p. 71-79, 2016.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Monografia da espécie Mentha x piperita L. (Hortelã Pimenta)**, 2015.
- CAMELE, Ippolito; *et al.* Chemical composition and antimicrobial properties of *Mentha* × *piperita* cv. 'Kristinka' essential oil. **Plants**, v. 10, n. 8, p. 1567, 2021.
- CLSI. Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; **Approved Guideline M26-A**, Wayne, PA, USA, 1999
- CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 12th ed. CLSI standard M07. **Clinical and Laboratory Standards Institute**; 2024.
- DA CRUZ, Pietra de Sá Calixto; *et al.* Avaliação do efeito antibacteriano do óleo essencial de *Juniperus communis* associado à cefalotina e à ampicilina contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*. **Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro**, v. 4, n. 1, 2024.
- DA SILVA, Kelvin Bispo; *et al.* Atividade antibacteriana dos óleos essenciais de hortelã pimenta (*Mentha piperita*), hortelã japonesa (*Mentha arvensis*) e manjerição (*Ocimum basilicum*) frente a cepas atcc de *Salmonella entérica* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Saúde-UNG-Ser-ISSN 1982-3282**, v. 15, n. 3/4, p. 17-22, 2021.
- DA SILVA NONATO, Israel; *et al.* Efeito antibacteriano do óleo essencial de *Mentha Piperita* L. sobre as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Textura**, v. 17, n. 2, p. 26-40, 2023.
- FERREIRA, Nicolly Soares; *et al.* Sinergismo antimicrobiano e atividades antibiofilme dos óleos essenciais de *Mentha piperita* L. e *Eucalyptus globulus* contra cocos Gram-positivos. **Scientia Plena**, v. 19, n. 8, 2023.
- GARDINER, Paula. Peppermint (*Mentha piperita*). **The Center for Holistic Education and Research. Revised May**, v. 2, p. 1-22, 2000.

FREIRE, Isabelle. *et al.* Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 16, p. 372-377, 2014.

HERRO, Elise; *et al.* *Mentha piperita* (peppermint). **Dermatitis**, v. 21, n. 6, p. 327-329, 2010.

HUDZ, Natalia; *et al.* *Mentha piperita*: Essential oil and extracts, their biological activities, and perspectives on the development of new medicinal and cosmetic products. **Molecules**, v. 28, n. 21, p. 7444, 2023.

ISCAN, Gokalp; *et al.* Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 14, p. 3943-3946, 2002.

KHARYSH, Liliia. Atividade biológica dos óleos essenciais, sua aplicação e potencialidades: óleo essencial de *Mentha x piperita* L. 2020. Dissertação de Mestrado. **Universidade de Lisboa** (Portugal).

MAHBOUBI, Mohaddese; *et al.* Antimicrobial activity of *Mentha piperitae*, *Zhumeria majdae*, *Ziziphora tenuior* oils on ESBLs producing isolates of *Klebsiella pneumonia*. **Biharean Biologist**, v. 6, n. 1, p. 5-9, 2012.

MELO, Wyara Ferreira; *et al.* Composição química e principais aplicações do óleo essencial da *Mentha piperita*: uma revisão de literatura. **Caderno Pedagógico**, 21(7), e5794., 2024.

NASCIMENTO, Paula; *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108-113, 2007.

NEO, Giovanna Gabrielle de Andrade. Perfil químico e avaliação do potencial antimicrobiano de óleos essenciais de plantas medicinais da família Lamiaceae. **Anuário Universidade Federal de Sergipe**, 2017.

PARREY, Zubair Ahmad *et al.* Exogenous epibrassinolide application improves essential oil biosynthesis and trichome development in peppermint via modulating growth and physicochemical processes. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 12924, 2023.

POTTIER, Marine; *et al.* Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from equine and other veterinary samples. **Pathogens**, v. 12, n. 1, p. 64, 2022.

RAMOS DA SILVA, Luiz Renan; *et al.* Lamiaceae essential oils, phytochemical profile, antioxidant, and biological activities. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, n. 1, p. 6748052, 2021.

RELLER, L. Barth; *et al.* Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. **Clinical infectious diseases**, v. 49, n. 11, p. 1749-1755, 2009

SANTOS, Camila Carneiro Monteiro dos; *et al.* Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Mentha piperita* L. sobre *Salmonella enteridis*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*. **Anuário Universidade Federal de Campina Grande**, 2011.

SARTO, Marcella Paula Mansano; *et al.* Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Uningá Review**, v. 20, n. 1, 2014.

SCHUKKEN, Ynte; *et al.* Efficacy of vaccination on *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci intramammary infection dynamics in 2 dairy herds. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 8, p. 5250-5264, 2014.

SCHUMACHER, Anika; *et al.* In vitro antimicrobial susceptibility testing methods: agar dilution to 3D tissue-engineered models. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 37, p. 187-208, 2018

SHELEPOVA, Olga V.; *et al.* Chemical components and biological activities of essential oils of *Mentha × piperita* L. from field-grown and field-acclimated after in vitro propagation plants. **Agronomy**, v. 11, n. 11, p. 2314, 2021.

SILVA, Renato; *et al.* Uso tópico do óleo essencial de *Mentha piperita* Linnaeus: Potencial terapêutico e segurança. **Research, Society and Development**, v. 13, n. 8, p. e14913846677-e14913846677, 2024.

SINGH, Rajinder; *et al.* Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 322-328, 2015.

SOUZA, Marcus Vinicius de Carvalho; *et al.* Propriedades fitoquímicas, uso terapêutico e toxicidade da *Mentha piperita* . **Revista de Casos e Consultoria**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. e27028, 2021.

SUN, Jiawei *et al.* Physical properties of the bacterial outer membrane. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 4, p. 236-248, 2022.

TALAB, Tayseer Ali *et al.* Evaluation of chemical composition and antibacterial activity of methanolic extracts from nine medicinal plants against standard bacterial strains in vitro. **Nativa**, v. 13, n. 3, 2025.

TULLIO, Vivian *et al.* Evaluation of the antifungal activity of *Mentha x piperita* (Lamiaceae) of Pancalieri (Turin, Italy) essential oil and its synergistic interaction with azoles. **Molecules**, v. 24, n. 17, p. 3148, 2019.

UDEKWU, Klas I. *et al.* Functional relationship between bacterial cell density and the efficacy of antibiotics. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 63, n. 4, p. 745-757, 2009.

VARGAS, Andrés Felipe Bolívar; *et al.* Biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* como mecanismos de resistencia y tolerancia a antibióticos. Revisión narrativa. **Revista Facultad Ciencias de la Salud: Universidad del Cauca**, v. 23, n. 2, p. 47-57, 2021.