

AValiação DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DO LÁTEX DE PINHÃO BRAVO (*Jatropha mollissima* L.) E PINHÃO ROXO (*Jatropha gossypifolia* L.), SOBRE MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS

Francisco Ângelo Gurgel da ROCHA (1); Leandro Ícaro Santos DANTAS (2); Fábio Gonçalves Macêdo de MEDEIROS (3); Luís Otávio de ARAÚJO (4).

(1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia. Campus Currais Novos, Rua Manoel Lopes Filho, 773 - Valfredo Galvão. CEP 59.380-000, Currais Novos – RN, e-mail: angelo.gurgel@ifrn.edu.br

(2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia. Campus Currais Novos, Rua Manoel Lopes Filho, 773 - Valfredo Galvão. CEP 59.380-000, Currais Novos – RN, e-mail: leandroicarosantos@hotmail.com

(3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia. Campus Currais Novos, Rua Manoel Lopes Filho, 773 - Valfredo Galvão. CEP 59.380-000, Currais Novos – RN, e-mail: fabio.macedo@live.com

(4) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia. Campus Currais Novos, Rua Manoel Lopes Filho, 773 - Valfredo Galvão. CEP 59.380-000, Currais Novos – RN, e-mail: luisotavio93@yahoo.com.br

RESUMO

Por milênios, o Homem tem explorado a flora como recurso terapêutico. Muitas das espécies medicinais utilizadas possuem fitoquímicos antimicrobianos. A resistência microbiana crescente representa um sério risco à saúde coletiva, sendo necessário o desenvolvimento de projetos que visem à prospecção de novas drogas antimicrobianas. Na Caatinga da Região do Seridó do RN são encontradas as plantas medicinais *Jatropha mollissima* (Pinhão-bravo) e *Jatropha gossypifolia* (Pinhão-roxo). Pertencentes à Família Euphorbiaceae. O presente projeto objetivou caracterizar a ação antibacteriana do látex destas espécies vegetais contra os patógenos *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* sorotipo *Typhi*, *Salmonella enteritidis* sorotipo *Typhi* e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Utilizou-se de uma abordagem experimental para todos os ensaios. Duplicatas de Placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton foram semeadas em superfície com culturas de cada microrganismo. Foram perfurados poços de 10 mm nos quais se inoculou 100 µL das diluições dos látex testados. As placas foram incubadas a 35±2°C/24 h. Os halos de inibição quando existentes foram medidos e registrados. *L. monocytogenes* apresentou a maior sensibilidade ao látex de *J. gossypifolia*; *S. aureus* foi inibido por *J. mollissima* e *J. gossypifolia*, *S. typhi* é mais sensível ao látex de *J. gossypifolia* e *S. typhimurium* ao de *J. mollissima*. Padrões de sazonalidade parecem influenciar a capacidade inibitória do látex.

Palavras-chave: caatinga, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*

1 INTRODUÇÃO

No decorrer da história da humanidade, as diversas sociedades humanas vêm explorando os recursos naturais objetivando melhorias na sua qualidade de vida e a resolução de problemas cotidianos. A flora e a fauna são desde tempos mais primitivos, fontes de matérias-primas para aplicações múltiplas tais como: elaboração de alimentos, cosméticos, confecção de vestuário, construção de abrigos e uso terapêutico. As propriedades farmacológicas das plantas medicinais derivam da existência de um complexo conjunto de substâncias e elementos químicos existentes em seus órgãos, denominado “fitocomplexo”.

Dentre as muitas aplicações possíveis das plantas com propriedades farmacológicas destaca-se o controle da proliferação microbiana. A prospecção de princípios ativos antimicrobianos no fitocomplexo de espécies vegetais tem sido incentivada diante da magnitude crescente da resistência microbiana, que tem imposto barreiras ao controle de espécies importantes do ponto de vista médico-sanitário. Apesar dos benefícios óbvios oferecidos pela prospecção de fitoquímicos, menos de 1% da Flora tropical foi estudada adequadamente.

A caatinga, por sua grande biodiversidade e alto número de espécies endêmicas apresenta grandes possibilidades no campo da prospecção de bioativos antimicrobianos em sua flora. Das espécies nativas de potencial interesse, destacamos as pertencentes à família Euphorbiaceae, *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill (pinhão-bravo) e a *Jatropha gossypifolia* L (pinhão-roxo), pouco estudadas no tocante ao seu potencial como fonte de antibacterianos. Levantamento bibliográfico indicou a inexistência de estudos comparativos da ação bactericida do látex das plantas mencionadas sobre *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* sorotipo *Typhi*, *Salmonella enteritidis* sorotipo *Typhimurium* e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Na indústria de alimentos, tais microrganismos patogênicos podem representar tanto um sério risco à qualidade sanitária dos seus produtos, quanto um problema de Saúde Coletiva. Os patógenos mencionados podem contaminar com facilidade alimentos e utensílios, com danos óbvios à saúde dos consumidores, sendo capazes de levar ao óbito.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A História das comunidades humanas tem refletido uma busca incessante por melhorias na qualidade de vida de seus integrantes. Nessa busca, a Fauna e a Flora têm fornecido por milênios as matérias-primas para a elaboração de abrigos, peças de vestuário, cosméticos e medicamentos. As espécies vegetais utilizadas para finalidades terapêuticas são genericamente denominadas “plantas medicinais”. Nos últimos anos, muitas das suas aplicações têm sido validadas cientificamente, relacionando-se a presença de certos fitoquímicos à sua atividade terapêutica indicada na Medicina Tradicional.

É bem conhecido que a eficácia terapêutica de uma planta medicinal não advém de um simples grupo de compostos, mas de uma grande variedade de fitoquímicos denominado “fitocomplexo”, cuja composição pode ser influenciada por fatores endógenos ou exógenos ao vegetal (CAPASSO et al., 2000). Dada a grande variação de composição bioquímica e concentração de componentes bioativos no fitocomplexo, é esperado que uma mesma planta medicinal possa apresentar dezenas (e até centenas) de atividades biológicas distintas e em muitos casos, antagônicas entre si (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2009). Potencialmente, toda substância, independente de sua proporção no vegetal e de ser ou não conhecida, pode ser um princípio ativo (FILHO & YUNES, 1998).

Diante da megadiversidade brasileira, a possibilidade de utilização de fitoquímicos no desenvolvimento de novos produtos é uma perspectiva animadora em face à resistência bacteriana aos antibióticos. Remontando à década de 50, o fenômeno resulta do uso indiscriminado destas drogas, sendo que a ineficácia crescente de tais quimioterápicos constitui um problema crescente para a Saúde Coletiva, interferindo diretamente sobre o controle de microrganismos patogênicos (BACCARO et al., 2002; NAWAZ, 2002). Dentre as espécies de patógenos que apresentam cepas resistentes, destacamos o *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* sorotipo *Typhi*, *Salmonella enteritidis* sorotipo *Typhimurium* e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Com base nisso, a presença de tais microrganismos em alimentos e superfícies de trabalho é uma preocupação prioritária para a Saúde Coletiva (BACCARO et al., 2002; GAYOSO et al., 2007; RAPINI et al., 2004; MANTILLA et al., 2008; RIBEIRO et al., 2006).

É consenso na comunidade acadêmica que iniciativas que visem à prospecção de novas drogas antimicrobianas em plantas medicinais, possibilitam o desenvolvimento de moléculas mais eficientes no controle de microrganismos resistentes aos quimioterápicos convencionais. É reconhecido mundialmente que

certas espécies vegetais possuem em seu fitocomplexo substâncias químicas com ação inibitória sobre microrganismos patogênicos (FRANZENER *et al.*, 2007; CORDEIRO *et al.*, 2006; FENNER *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2007, SOARES *et al.*, 2007, USHIMARU *e al.*, 2007). Dentre as espécies vegetais potencialmente úteis ao controle de microrganismos resistentes aos antibióticos encontradas na Região do Seridó do Rio Grande do Norte estão a *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill - pinhão-bravo e *Jatropha gossypifolia* L - pinhão-roxo, espécies lactescentes pertencentes à Família Euphorbiaceae (BRAGA, 1960; BARG, 2004; BRASILEIRO *et al.*, 2006). A Família Euphorbiaceae é um objeto interessante de estudo, já que existem relatos da presença de princípios ativos antibacterianos, tais como: apigenina, β -sitosterol, taninos, ácido cítrico, ácido elágico e ácido málico em várias de suas espécies (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2009).

Apesar de seu potencial uso como fonte de antimicrobianos, as espécies mencionadas têm sido alvo de pouco ou nenhum estudo no tocante às suas propriedades antibacterianas: levantamento bibliográfico indicou a inexistência de trabalhos acerca da ação antibacteriana de *J. mollissima* e *J. gossypifolia* assim como estudos comparativos da ação antibacteriana *in vitro* das duas espécies frente à microrganismo patogênicos como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhi, *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhimurium e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

3 DESCRIÇÃO DA PROPOSTA

O presente trabalho objetivou caracterizar a atividade antibacteriana do látex de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill (pinhão-bravo) e a *Jatropha gossypifolia* L (pinhão-roxo) sobre os patógenos *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhi, *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhimurium e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), comparando a efetividade de sua ação, bem como a influencia sazonal sobre o efeito inibitório.

4 METODOLOGIA

Conforme a classificação de Gil (1991) utilizou-se uma abordagem Experimental, na qual se avaliou a ação do látex dos vegetais referenciados sobre os microrganismos-alvo descritos.

4.1 Espécies Medicinais Estudadas, Parte Coletada e Área da Coleta.

Foram testadas amostras do látex obtido a partir de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill (Pinhão-Bravo) e *Jatropha gossypifolia* L (Pinhão-Roxo). Os espécimes estudados foram selecionados e identificados, no município de Cruzeta (06°24'43,2" Sul; 36°47'24,0" Oeste) e Acari (06°26'9,6" Sul; 36°38'20" Oeste), ambos situados na mesorregião Central Potiguar e na microrregião Seridó Oriental, com clima quente e semi-árido (BRASIL, 2005^a; BRASIL, 2005^b).

4.2 Coleta das Amostras

Após a seleção do espécime e sua correta identificação botânica, foram coletados cerca de 10 mL de látex (para cada uma das repetições), utilizando-se para tanto ação mecânica lesiva aos tecidos vegetais. O material foi recolhido em tubos de ensaio com tampa rosqueável estéreis, identificados por etiqueta contendo: nome da espécie, data da coleta e nome do coletor. O mesmo exemplar foi utilizado para as coletas subsequentes. Os tubos contendo as amostras de látex devidamente identificados foram envolvidos em papel alumínio e encaminhados ao Laboratório de Alimentos do IFRN – Campus Currais Novos, onde foram mantidos sob refrigeração a 10°C e protegidos da luz até o momento da sua utilização nos experimentos, obedecendo ao prazo máximo de 48 horas para o início dos experimentos.

4.3 Períodos das Coletas

As coletas dos látex no período chuvoso ocorreram entre os meses de maio à julho, nos quais registrou-se maior incidência de chuvas na região do seridó norte-riograndense, enquanto que, as coletas correspondentes ao período seco estão compreendidas entre os meses de setembro à novembro, estação em que a disponibilidade de água e a frequência de chuvas é baixa, caracterizando-se por uma época de estiagem.

4.4 Preparo das Diluições Seriais

Utilizando-se solução salina estéril, foram preparadas diluições seriais do látex de cada uma das espécies, com concentrações de 100% (não diluído), 80%, 60%, 40%, 20%, 10%. As diluições foram acondicionadas individualmente em frascos fechados e identificados, protegidos da incidência de luz e mantidos sob refrigeração a 10 °C até o momento de sua utilização.

4.5 Microrganismos-Alvo

A atividade antibacteriana das espécies vegetais estudadas foi testada sobre os microrganismos *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* sorotipo *Typhi*, *Salmonella enteritidis* sorotipo *Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). As culturas puras foram obtidas a partir da bacterioteca do IFRN Campus Currais Novos.

4.6 Padronização do Inóculo

Os microrganismos foram inoculados em tubos de ensaio contendo caldo BHI estéril e incubados a 37 °C em condições aeróbias por 2 a 6 horas, em seguida foram comparados ao padrão 0,5 da Escala de McFarland. Quando necessário, a turbidez da cultura foi ajustada com uso de solução salina estéril, imediatamente antes da semeadura nas placas (ALVES *et al.*, 2008; NCCLS, 2003).

4.7 Inoculação das Placas de Teste

Foram utilizadas placas de Petri de 180 mm de diâmetro, contendo cerca de 60 mL de ágar Mueller-Hinton, previamente identificadas. As placas foram semeadas pelo método *spread plate*, com utilização de *swab* estéril. Para cada espécie de microrganismo foram inoculadas placas em duplicata. As placas foram mantidas entreabertas na Cabine de Segurança Biológica pelo tempo máximo de 5 minutos, permitindo a absorção/evaporação do excesso de umidade (NCCLS, 2003).

4.8 Teste de Difusão em Ágar e Leitura dos Resultados

Em cada uma das placas semeadas, foram perfurados 7 poços, sendo um deles central e os demais periféricos. A distância mínima entre os poços foi de aproximadamente 20 mm. Para os poço foi transferido 100 µl do látex puro de cada espécie e suas diluições progressivas (VALGAS, 2007). O controle positivo foi inoculado no poço central, ao qual foi adicionado 100 µl de Cloranfenicol (4mg/mL). As placas foram incubadas a 37 °C/24 h em condições aeróbias, após o que se verificou a ocorrência de crescimento uniforme dos microrganismos e a presença de halo de inibição. Os diâmetros dos halos foram mensurados com uso de paquímetro, incluindo-se nestes o valor correspondente aos poços. (NCCLS, 2003).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados referentes ao espectro de ação das espécies vegetais sobre os microrganismos-alvo, são descritos nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1- Diâmetro dos maiores halos de inibição observados, obtidos a partir de frações do látex não-diluído de *Jatropha mollissima* e *Jatropha gossypifolia* (Tabela referente à atividade inibitória do látex).

Microrganismo	Período	Espécie vegetal/Halo de inibição (mm)		Controle + Cloranfenicol I (mm)
		<i>Jatropha mollissima</i> (JM)	<i>Jatropha gossypifolia</i> (JG)	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Chuvoso	20	15	36
	Seco	15	17	35
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	Chuvoso	14	0	33
	Seco	15	15	33
<i>Salmonella enteritidis</i> sorotipo <i>Typhi</i>	Chuvoso	18	25	31
	Seco	12	0	30
<i>Salmonella enteritidis</i> sorotipo <i>Typhimurium</i>	Chuvoso	20	22	39
	Seco	12	0	38

Os microrganismos que foram inibidos apresentando os maiores halos pelos látex não-diluídos de *J. mollissima* (JM) e *J. gossypifolia* (JG), respectivamente foram JM: *L. monocytogenes*, 20 mm; *S. typhimurium*, 20 mm e JG: *S. typhi*, 25 mm; *S. typhimurium*, 22 mm

Podemos estabelecer a partir dos dados obtidos que o microrganismo *L. monocytogenes* é mais sensível ao látex de *J. gossypifolia*, porque observou-se que esta espécie inibiu-o em concentração quatro vezes menor. Contudo, o halo obtido a partir do látex não-diluído de *J. mollissima* apresentou halo maior em comparação ao de *J. gossypifolia* (Tabela 1). Tais diferenças na inibição do mesmo microrganismo provavelmente devem-se a composição química dos látex testados.

Tabela 2 - Menores concentrações nas quais se observou halo de inibição de *Jatropha mollissima* e *Jatropha gossypifolia* (Tabela referente à sensibilidade do microrganismo frente ao látex testado).

Microrganismo	Diluição Inibitória Mínima/Espécie		
	Período	<i>Jatropha mollissima</i>	<i>Jatropha gossypifolia</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	Chuvoso	40%	10%
	Seco	40%	10%
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	Chuvoso	60%	0%
	Seco	20%	10%
<i>Salmonella enteritidis</i> sorotipo Typhi	Chuvoso	60%	40%
	Seco	60%	0%
<i>Salmonella enteritidis</i> sorotipo Typhimurium	Chuvoso	40%	60%
	Seco	60%	0%

Tanto *J. mollissima* quanto *J. gossypifolia* inibiram o microrganismo *S. aureus*, sendo que o halo obtido por *J. gossypifolia* foi do látex testado no período seco, a amostra do látex desta espécie testada no período chuvoso não apresentou inibição. Hipotetizamos que as condições climáticas e a disponibilidade de água possam significativamente ter interferido na inibição do látex de *J. gossypifolia* durante o período chuvoso.

Os maiores halos de inibição apresentados pelos microrganismos *S. typhi* e *S. typhimurium* foram referentes à *J. gossypifolia* no período chuvoso, pois esta mesma espécie durante o período seco não apresentou inibição contra os microrganismos (Tabela 1). *S. typhi* mostrou-se mais sensível ao látex de *J. gossypifolia*, enquanto *S. typhimurium* ao de *J. mollissima* (Tabela 2).

Podemos supor que tais diferenças na atividade inibitória das amostras de látex, possam ter sido influenciadas tanto pelo período climático em que foi testado ou pela região de onde foram coletadas as amostras e que tais diferenças devam-se às variações na composição química dos mesmos, uma vez que o fitocomplexo é afetado pelas diversas interações ecológicas que ocorre no meio onde estão inseridas determinadas espécies e que o estresse hídrico, o clima e a composição química do solo podem influenciar significativamente na composição do mesmo (CAPASSO *et al.*, 2000).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Verificou-se que dentre as espécies vegetais testadas, o látex de *Jatropha mollissima* apresentou o espectro de ação mais amplo, inibindo o crescimento de todos os microrganismos-alvo e mantendo a sua atividade inibitória nas variações, tanto no período chuvoso quanto no seco. O látex de *Jatropha gossypifolia* mostrou-se como o segundo mais efetivo em níveis de sensibilidade. Os resultados apontam para uma possível influência da disponibilidade hídrica sobre as propriedades inibitórias dos látex de *J. mollissima* e *J. gossypifolia*.

Diante dos resultados obtidos, propomos que sejam realizados estudos mais detalhados acerca das propriedades antimicrobianas do látex de *Jatropha mollissima* e *Jatropha gossypifolia*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. G.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; JACOMETTI, N. A.; FURTADO, C.; MARTINS, C. H. G.. **Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade**

antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. Quim. Nova. V 31, n5, p1224-1229, 2008.

BACCARO, M. R.; MORENO, A. M.; CORRÊA, A.; FERREIRA, A. J. P.; CALDERARO, F. F..
Resistência antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de fezes de leitões com diarreia. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v 69, n 2, p 15-18, abr-jun, 2002.

BARG, D. G.; **Plantas tóxicas. Monografia.** IBEHE/FACIS. São Paulo, 2004. Disponível em http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/plantas_toxicas.pdf. Acesso em 31/03/2009.

BRAGA, R.; **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará.** 5. ed. Mossoró: Fundação Vingt-Un Rosado, 1960.

BRASIL. MINISTÉRIO DAS MINAS E ENERGIA. **Projeto de fontes de abastecimento por água subterrânea no Estado do Rio Grande do Norte:** Diagnóstico do Município de Acari. Recife, 2005^a.

BRASIL. MINISTÉRIO DAS MINAS E ENERGIA. **Projeto de fontes de abastecimento por água subterrânea no Estado do Rio Grande do Norte:** Diagnóstico do Município de Cruzeta. Recife, 2005^b.

BRASILEIRO, B. G.; PIZZOLO, V. R.; RASLAM, D. S.; JAMAL, C. M.; SILVEIRA, D.; **Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some brazilian medicinal plants used in Governador Valadares District.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. V 42, n 2, 2006.

CAPASSO, R.; IZZO, A.A.; PINTO, L; BIFULCO, T.; VITOBELLO, C.; MASCOLO, N. **Phytotherapy and quality of herbal medicines.** *Fitoterapia*, n. 71, p. 58, 2000.

CORDEIRO, C. H. G.; SACRAMENTO, L. V. S.; CORRÊA, M. A.; PIZZOLITTO, A. C.; BAUAB, . M.. **Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal.** Brazilian journal of Pharmaceutical Sciences. V 42, n 3, jul-set, 2006.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A.; RATES, S. M. K.. **Plantas utilizadas na medicina popular com potencial atividade antifúngica.** Brazilian journal of Pharmaceutical Sciences. V 42, n 3, jul-set, 2006.

FILHO, V. C.; YUNES, R.; A..**Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre a modificação estrutural para otimização da atividade.** Química nova, 21, 1. 1998.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A. S.; STANGARLIN, J. R.; CZEPAK, M. P.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.. **Antibacterial, antifungal and phytoalexins induction activities of hydrolates of medicinal plants.** Semina: ciências Agrárias, Londrina, v 28, n 1, p 29-38. jan-mar 2007.

GAYOSO, M. F. A.; OLIVEIRA, A. D. D.; D 'AZEVEDO, P. A.; YU, M. C. Z.; HOFLING-LIMA, A. L.. FRANCISCO, W. **Suscetibilidade antimicrobiana in vitro dos *Staphylococcus coagulase negativa* oculares.** Arq. Bras. De Oftalmo., 70, 2007.

GIL, A. C.; **Como elaborar projetos de pesquisa.** São Paulo: Atlas S. A. , 1991.

LIMA, M. R. F.; XIMENES, E. C. P.; LUNA, J. S.; SANT'ANA, A. E. G.. **The antibiotic activity of some medicinal plants.** Brazilian journal of pharmacognosy. V 16, n 3, p 300-306, jul-set 2006.

MANTILLA, S. P. S.; FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, L. A. T. DE; SANTOS, E. B.; GOUVÊA, R.. **Resistência antimicrobiana de bactérias do gênero *Listeria* spp. Isoladas de carne moída bovina.** Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. V 45, n 2, p 116-121, 2008.

NAWAZ, M.S. **Human health impact and regulatory issues involving antimicrobial resistance in the food animal production environment.** Disponível em: <http://www.fda.gov>. Acesso em 22 out 2002.

NCCLS. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**: approved standard. 8 ed. NCCLS Document M2-A8. Pennsylvania, USA, 2003.

RAPINI, L. S.; TEIXEIRA, J. P.; MARTINS, N. E.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; SOUZA, M. R.; PENNA, C. F. A. M.. **Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus sp.* Isoladas de queijo tipo coalho**. Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.. v 56, n1 , p 130-133, 2004.

RIBEIRO, A. R.; KELLERMANN, A.; SANTOS, L. R.; FITTÉL, A.P.; NASCIMENTO, V. P.. **Resistência antimicrobiana em *Salmonella enterica* subsp *enterica* sorovar hadar isoladas de carcaças de frango**. Arq. Inst. Biol. V 73, n 3, p 357-360. jun-set, 2006.

SILVA, J. G. A.; SOUZA, I. A.; HIGINO, J. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.. **Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. Em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus***. Revista brasileira de farmacognosia. 17(4): 572-577, out-dez 2007.

SOARES, D. G. S.; OLIVEIRA, C. B.; LEAL, C.; DRUMOND, M. R S.; PADILHA, W. W. N.. **Atividade antibacteriana *in vitro* da tintura de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) na descontaminação de escovas dentais contaminadas pelo *S. mutans***. Pesq Brás Odontoped Clin Integ. João Pessoa, 7(3): 253-257, set-dez 2007.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. Dr. **Duke's phytochemical and ethnobotanical databases. Base de dados**. Disponível em: <http://www.ars-grin.gov/duke/>. Acesso em: 06 abr 2009.

USHIMARU, P. I.; SILVA, M. T. NOGUEIRA; DI STASI, L. C.; BARBOSA, L.; JÚNIOR, A F.. **Antibacterial activity of medicinal plant extracts**. Brazilian Journal of Microbiology. 38: 717-719. 2007.

VALGAS, C.; SOUZA, S. M.; SMÂNIA, E. F. A.; **Screening methods to determine antibacterial activity of natural products**. Brazilian Journal of microbiology. 38: 369-380. 2007.