



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE LICENCIATURA E BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Eugenia uniflora* L.

NATÁLIA ARAGÃO BEZERRA

CAMPINA GRANDE-PB
Junho, 2012

NATÁLIA ARAGÃO BEZERRA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Eugenia
uniflora* L.

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Licenciado e Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadores:

Prof. DSc. Delcio de Castro Felismino

Prof. MSc. Thiago Pereira Chaves

CAMPINA GRANDE, PB
Junho, 2012

B574a Bezerra, Natália Aragão.
Avaliação da atividade antimicrobiana de *Eugenia uniflora* L. [manuscrito] / Natália Aragão Bezerra. – 2012.
36 f. : il. color.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2012.
“Orientação: Prof. Dr. Délcio de Castro e Felismino, Departamento de Biologia”
“Co-Orientação: Prof. Me. Thiago Pereira Chaves, Departamento de Biologia”

1. *Eugenia uniflora* L.. 2. Pitangueira. 3. Plantas.
4. Microbiologia de alimentos. I. Título.

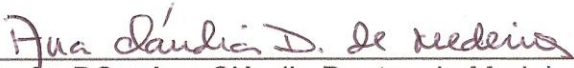
NATÁLIA ARAGÃO BEZERRA

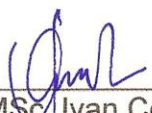
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Eugenia uniflora* L.

Aprovada em: 29 de Junho de 2012.

BANCA EXAMINADORA:


Prof. DSc. Delcio Castro Felismino
DB/CCBS/UEPB
Orientador


Profa. DSc. Ana Cláudia Dantas de Medeiros
DF/CCBS/UEPB
Examinadora


Prof. MSc. Ivan Coelho Dantas
Convidado
Examinador

DEDICATÓRIA

Ao meu filho, Arthur Aragão Thamay Medeiros, que me dá força e coragem para encarar os desafios da vida, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter sido meu guia em momentos difíceis, esteve sempre ao meu lado.

Aos meus pais pela confiança.

A Felipe Thamay pela ajuda, amor e estímulo.

Aos sorrisos do meu filho, que em muitos momentos foi suficiente para me dar força e coragem.

Ao professor Ivan Coelho Dantas pela confiança e pelo incentivo.

Aos meus orientadores Délcio de Castro e Felismino e Thiago Pereira Chaves, pela dedicação, paciência e firme orientação em todos os momentos.

Ao Laboratório de Botânica, pelo apoio.

Ao Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos, pela oportunidade concedida para realização deste trabalho.

As minhas amigas, Ana Cláudia, Emanuella Gonçalves, Fernanda Fernandes, Heloísa Silva e Mayara Beltrão pelo apoio e carinho nas horas difíceis.

E a todos que não foram citados, mas de alguma maneira contribuíram para a concretização desse sonho.

“Cada dia que amanhece assemelha-se a uma página em branco, na qual gravamos os nossos pensamentos, ações e atitudes. Na essência, cada dia é a preparação de nosso próprio amanhã.”

Chico Xavier

RESUMO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA *Eugenia uniflora* L.

A *Eugenia uniflora* L. (pitangueira) é uma planta de frutos comestíveis muito conhecida e apreciada no Brasil. Segundo a medicina popular, o chá de suas folhas atividade antimicrobiana. Com base no exposto, o trabalho teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcoólico da folha de *Eugenia uniflora* L. frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C.parapsilosis*, *C. Krusei* e *C. guilliermondii*. As folhas da *E.uniflora*, foram secas em estufa de circulação de ar e moídas em moinho de facas com granulometria de 10 mesh. O extrato hidroalcoólico à 70% foi obtido pelo método de maceração a frio. Na análise microbiológica, utilizou-se o método da difusão em ágar-cilindro em placas, onde nos cilindros de aço inoxidável foram adicionados 100µL do extrato, utilizando como controle negativo, álcool a 70%, sendo testadas diluições seriadas [100, 50, 25; 12,5; 6,25 e 3,13% (v/v)] do referido extrato, em seguida, as placas foram incubadas a 37°C. A leitura dos testes foi realizada medindo os diâmetros dos halos de inibição (mm) ao redor do cilindro, considerando-se como possuidora de atividade antimicrobiana a solução do extrato hidroalcoólico que apresentou um halo de inibição de crescimento igual ou superior a 8,0mm de diâmetro. Constatou-se atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico frente às cepas de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, com diâmetro dos halos de inibição variando de 13,14 a 11,07mm, e 16,11 a 11,59mm, respectivamente, e efeito inibitório mínimo na diluição de 3,13% (11,07mm e 11,59mm, respectivamente). Concluí-se que, o extrato da *E.uniflora* constitui um meio medicinal alternativo com atividade anti-infectiva sobre *S. aureus* e *P.aeruginosa*, por outro lado, não nos permite afirmar que a referida planta não pode ser usada como alternativa contra as demais espécies bacterianas e fúngicas avaliadas. Sugere-se a realização de estudos com solventes de diferentes polaridades.

Palavras-chave: Pitangueira; extrato hidroalcoólico; ágar-cilindro; concentração inibitória mínima.

ABSTRACT

ASSESSMENT OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Eugenia uniflora* L.

The *Eugenia uniflora* L. (Surinam cherry) is a plant of edible fruits very known and appreciated in Brazil. According to folk medicine, the tea of its leaves has action, among them, antimicrobial, with application of hypotensive effects, antigota, stomachic and hypoglycemic. Based with on exposed, the present work aimed to evaluate the antimicrobial in vitro of extract Leaf hydroalcoholic of *Eugenia uniflora* L. against strains of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. Krusei* e *C. guilliermondii*. From the leaves of Surinam cherry, dried and ground, was obtained the hydroalcoholic extract by the method of the maceration. In the microbiological analysis, used the method of diffusion in agar-cylinder in plate, where in stainless steel cylinders was added 100µL of extract as negative control, alcohol 70%, being tested serial dilutions [100, 50, 25; 12,5; 6,25 e 3,13% (v/v)] of said extract, in then, the plates were incubated at 37°C. The reading of test was performed measuring the diameters of inhibition halos (mm) around the cylinder, considering as having antimicrobial activity the solution of the extract hydroalcoholic which showed an inhibition halo growth equal to or greater of 8.0 mm in diameter. It was found antibacterial activity of hydroalcoholic extract front to strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, with diameter of the haloes inhibition ranging of 13.14 to 11.07 mm and 16.11 to 11.59 mm, respectively, and inhibitory effect minimum in dilution of 3.13% (11.07 mm and 11.59 mm, respectively). Therefore, this study present, at the assay conditions, it was concluded that, the extract of the pitangueira is a means dressing alternate with activity anti-infective on *S.aureus* and *P. aeruginosa*. On the other hand, not allow us to assert that such plant cannot be used alternatively against other bacterial and fungal species evaluated. It is suggested realization of studies with solvents of different polarities.

Keywords: Surinam cherry, hydroalcoholic extract, agar-cylinder, minimum inhibitory concentration.

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1 <i>Eugenia uniflora</i> L.	16
Figura 2 Preparação do inóculo	19
Figura 3 Teste de sensibilidade microbiana	20
Figura 4 Zona de inibição do extrato hidroalcoólico de <i>Eugenia uniflora</i>	22

LISTA DE TABELAS

	Pag.
Tabela 1 Médias aritméticas dos halos de inibição (mm) da avaliação da concentração inibitória mínima do extrato hidroalcoólico de <i>Eugenia uniflora</i> frente à cepas bacterianas e fúngicas, meio sólido.	

SUMÁRIO

	Pag.
1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	12
2.1. Geral	12
2.2. Especificos	12
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3.1. Resistência microbiana	13
3.2. Fitoterapia	13
3.2.1. <i>Eugenia uniflora L.</i>	14
<i>3.2.2. Atividade antimicrobiana vegetal</i>	15
4. MATERIAL E METÓDOS	16
4.1. Local do estudo	16
4.2. Obtenção do material vegetal, localização e época da coleta	16
4.3. Moagem	17
4.4. Obtenção do extrato hidroalcoólico	17
4.5. Análise microbiológica	17
4.5.1. <i>Cepas de microrganismos</i>	18
4.5.2. <i>Teste de sensibilidade microbiana</i>	18
4.5.3. <i>Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)</i>	19
4.6. Análise dos dados	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6. CONCLUSÃO	26
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1. INTRODUÇÃO

Ao longo das últimas duas décadas, os fungos tornaram-se uma das principais causas de doença em humanos, particularmente em indivíduos imunodeprimidos ou hospitalizados com graves distúrbios subjacentes (MURRAY; ROSENTHAL; PFAÜER, 2006). Com relação às bactérias, nos chama a atenção a sua patogenicidade e prevalentes agentes de infecções hospitalares em todo o mundo, constituindo assim, uma séria ameaça à saúde pública (BENVINDO, 2010).

A utilização terapêutica de penicilina e outros antibióticos a partir da década de 1940 tem sido uma das realizações mais importantes do século. Desde então se tem obtido, comercializado e utilizado em grande quantidade os antibióticos com a falsa esperança de que as enfermidades produzidas por micróbios desapareçam. Porém nos anos 50 ficou claro que as bactérias foram capazes de desenvolver mecanismos de resistência (PERÈZ, 1998). Segundo Duarte (2006), a resistência a drogas é um dos casos mais bem documentados de evolução biológica e um sério problema tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento.

O ônus elevado da assistência médica privada, a precariedade da assistência prestada pelos serviços públicos e o alto custo dos alopáticos vem motivando, em todo o mundo, uma maior adesão ao uso da medicina natural (FRANÇA et al., 2008).

A Fitoterapia constitui uma forma de terapia medicinal, a qual vem crescendo notadamente nestes últimos anos (YUNES; PEDROSA; CECHINEL, 2001). O Brasil é um país rico na matéria prima dos fitoterápicos, vários estudos estão sendo direcionados a essa linha de medicamentos, porém ainda há muito que se conhecer.

A *Eugenia uniflora* L. (pitangueira) é uma planta de frutos comestíveis muito conhecida e apreciada no Brasil, e o chá de suas folhas tem aplicação na medicina popular (AURICCHIO; BACCHI, 2003; DANTAS et al., 2007) dentre elas, ação antimicrobiana (BRUN; MOSSI, 2007).

Essa pesquisa visa prioritariamente contribuir com a investigação sobre produtos naturais com atividade antimicrobiana, que já estão sendo realizados no Brasil. A análise das propriedades antimicrobianas do extrato vegetal da Pitanga, contribui para a caracterização farmacológica da espécie de uso medicinal na região nordeste.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia uniflora* L. frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. tropicalis*.

2.2 Específicos

- Avaliar a ação antimicrobiana *in vitro* do extrato da referida planta frente a cepas bacterianas e fúngicas de interesse médico;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima do extrato testado.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Resistência microbiana

Resistência microbiana é um assunto de grande preocupação em saúde pública. Novas drogas, incluindo um arsenal de reserva com menos efeitos colaterais merecem especial atenção (SEGOVIA et al., 2008). A incidência global de determinadas infecções fúngicas invasivas específicas continua a aumentar ao longo do tempo e a lista de infecções oportunistas e fungos patogênicos também expande a cada ano (MURRAY; ROSENTHAL; PFAÜER, 2006).

Quanto às bactérias, Rodrigues (1997) e Moura (2004) comentam que, com o evento da resistência bacteriana aos antimicrobianos, surgiu as cepas multirresistentes, de difícil tratamento, exigindo dos profissionais da área de saúde adesão total às precauções padrão e medidas de isolamento na assistência aos portadores, evitando a disseminação das mesmas.

O problema da resistência microbiana, segundo Nascimento et al. (2000), é crescente e a perspectiva de uso de drogas antimicrobianas no futuro é incerta. Portanto, atitudes devem ser tomadas para que possam reduzir este problema, como, por exemplo, controlar o uso indiscriminado de antibióticos, desenvolverem pesquisas para melhor compreensão dos mecanismos genéticos de resistência e continuar o estudo de desenvolvimento de novas drogas, tanto sintéticas como naturais.

De acordo com Duarte (2006), as propriedades antimicrobianas que as plantas apresentam são efeitos dos produtos de seu metabolismo secundário, tais substâncias tais como 1,8-cineol, limoneno e linalol, geranial, germacreno-D, e mentol têm sido reconhecidas e confirmadas cientificamente. Portanto, os extratos vegetais e suas substâncias fitoquímicas, com propriedades antimicrobianas conhecidas, podem ser de grande significado em tratamentos terapêuticos (NACIMENTO et. al., 2000).

3.2. Fitoterapia

Com o passar do tempo, o homem foi observando os efeitos causados pela ingestão de plantas, tanto por eles mesmos quanto por animais e passou a relatar esses fatos, podendo então verificar a dosagem ideal para conseguir o efeito

desejado, e assim pode utilizá-la não apenas como alimento, mas também para o fim medicinal (LORENZI; MATOS, 2002; DANTAS, 2007).

A fitoterapia tem sido uma das práticas mais discutidas na contemporaneidade, buscando-se, tanto no Brasil quanto em outros lugares do mundo, mecanismos de regulamentação e implementação de políticas para a área (OLIVEIRA, 2005).

Fitoterápico, de acordo com a legislação sanitária brasileira (BRASIL, 2004), é o medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade.

Devido as diversas confirmações e reconhecimentos do poder medicinal das plantas pela comunidade científica, o potencial da flora brasileira para uso na medicina tem obtido destaque no meio científico interessado em descobrir novas substâncias com valores terapêuticos (MALAFAIA et al., 2006; BRASIL, 2009). E isto, fez com que o Ministério da Saúde divulgasse uma listagem contendo 71 plantas medicinais, com o objetivo de direcionar os estudos para que estas plantas fossem implementadas como uma forma terapêutica alternativa para a população do Sistema Único de Saúde (ANVISA, 2011).

3.2.1. *Eugenia uniflora* L.

Espécie popularmente conhecida como pitanga comum, pitanga verdadeira, ubipitanga, ibipitanga, pitanga vermelha, pitangueira do jardim, pitanga-cuba (CORRÊA, 1984). Caracteriza-se por ser uma árvore pequena, folhas opostas, ovais, glabras, hipoestomática, apresenta idioblastos contendo drusas e cristais prismáticos possivelmente de oxalato de cálcio (ALVES; TRESMONDI; LONGUI, 2008). Flores alvas, dispostas em pedúnculos axilares, e de frutos comestíveis (AURICCHIO; BACCHI, 2003), tipo baga, de cores vermelho-escuro, preto ou amarelo, com polpa carnosa ou agridoce, contendo uma ou duas sementes (CORRÊA, 1984; LORENZI; MATOS, 2002).

As folhas da pitangueira teem aplicação na medicina popular, na forma de chá (AURICCHIO; BACCHI, 2003), e com conhecidas atividades terapêuticas, dentre elas, a antiinflamatória (DANTAS, 2007; VIZZOTTTO, 2008).

Em estudos já realizados observa-se nas folhas da pitangueira a presença de antraquinonas, esteróides, triterpenos, heterosídeos flavonóides, heterosídeos

saponínicos e taninos (FIUZA et al., 2008; COUTO et al., 2009; AZEVEDO, CHIM, SILVA, 2010) citronelol, geraniol, cineol e sesquiterpenos (SCHAPOVAL et al., 1994, apud FIUZA et al., 2008), sesquiterpenos, compostos fenólicos (AURICCHIO; BACCHI, 2003), flavonóides, taninos, saponinas e terpenos (FIUZA et al., 2008; COUTO et al., 2009; AZEVEDO; CHIM; SILVA, 2010), antocianinas, flavonóides e carotenóides (LIMA; MELO; LIMA, 2002) sugerindo um importante potencial fitoterapêutico a ser investigado.

3.2.2. Atividade antimicrobiana vegetal

Ensaio farmacológico realizado com os extratos das folhas da *E. uniflora* permitiram evidenciar atividade inibitória da enzima xantina-oxidase por ação dos flavonóides (SCHMEDA-HIRSCHMANN et al., 1987), atividade antibacteriana com extratos das folhas da *Eugenia uniflora* contra alguns germes patogênicos, bactérias Gram positivas, *Staphylococcus aureus* e Gram negativas *Escherichia coli* (FADEY; AKPAN, 1989), atividade moderada frente a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e atividade contra as leveduras, *Candida krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. (HOLETZ et al., 2002; Farias, Casimiro e Lima, 2000), os segundos autores, acrescentam ainda *C. albicans*, *C. guilliermondii*.

A partir do levantamento bibliográfico, constatou-se a realização de estudos avaliando o potencial antimicrobiano do extrato e óleo essencial das folhas, polpa e sementes da *Eugenia uniflora* L., dentre eles, destaca-se o efeito inibitório frente à *Pseudomonas aeruginosa* (AURICCHIO E BACCHI, 2003), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (SOUZA et al., 2004), *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (AURICCHIO et al., 2006), *Staphylococcus epidermidis* (BRUN E MOSSI, 2007), *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella* sp. (OLIVEIRA et al., 2008), *Pseudomonas aeruginosa* (FIUZA, 2009), *Staphylococcus aureus* (SOUZA et al., 2009).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local do estudo

A pesquisa foi realizada nos Laboratórios de Botânica e de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos, localizados no Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Universidade Estadual da Paraíba.

4.2. Obtenção do material vegetal, localização e época da coleta

O material vegetal foi obtido através da coleta de galhos com folhas de plantas adultas da *E.uniflora* (Figura 1), devidamente selecionadas, baseando-se nas características botânicas e fitossanitárias, no período de 8:00 às 10:00h, respeitando a época ideal de coleta (estádios vegetativo e reprodutivo). A coleta ocorreu nas imediações do Sítio Cardoso, município de Massaranduba-Paraíba, situado entre as coordenadas 7°13.345'S e 35° 49.703'O, com altitude de 418 m acima do nível do mar.



Figura 1A e B. *Eugenia uniflora* L.: A. Galhos e B. Folhas.

Fonte: Natália Aragão, 2011.

Foram realizadas, manualmente, duas coletas das respectivas amostras de cascas e folhas, as quais foram acondicionadas, separadamente, em saco de papel

Kraft. Na primeira coleta, obteve-se uma representação da planta, no estágio de floração, a qual foi utilizada para identificação da referida espécie no Herbário Arruda Câmara/Laboratório de Botânica/UEPB, sendo registrada sob número 078. A segunda representou à aquisição do material, no estágio vegetativo, o qual foi submetido à obtenção do extrato hidroalcoólico no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos/UEPB.

4.3 Moagem

Após a secagem, o material seco (folhas) foi triturado em moinho do tipo Willey[®], e o composto resultante (material moído) foi tamisado em tamis de 10 mesh. Em seguida, o material moído foi acondicionado em embalagens hermeticamente fechadas, e protegida do ar e da radiação solar.

4.4. Obtenção do extrato hidroalcoólico

O extrato hidroalcoólico, foi obtido por maceração a frio, na proporção de 1:1, adotando procedimentos recomendados por Chernoviz (1920) e Farmacopéia Brasileira (1988). Foram pesados 50g do material moído, em seguida, foram adicionados 50mL da solução hidroalcoólica a 70%, a qual foi acondicionada em recipiente de vidro âmbar hermeticamente fechado e protegido da radiação solar, por período de 72 horas, durante este período foram realizadas agitações manuais diárias, para obtenção de uma maior homogeneização, com objetivo de facilitar uma melhor extração das substâncias fitoquímicas. Decorrido o período de maceração, o material foi filtrado, utilizando um funil com algodão, para remoção de resíduos sólidos. Após filtração, do extrato resultante, foi retirada a alíquota de 40mL, e o restante do extrato foi aquecido em banho-maria a 60 °C, para redução a 10mL, após a obtenção dessa alíquota, a mesma foi adicionada aos 40mL, totalizando 50mL, o qual foi acondicionado em frasco âmbar, previamente limpos e secos, e imediatamente utilizados na etapa seguinte da análise microbiológica.

4.5. Análise microbiológica

A avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto fluido da *Eugenia uniflora* foi realizada no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos.

4.5.1. Cepas de microrganismos

Foram utilizadas cepas padronizadas American Type Culture Collection (ATCC), de bactérias Gram positivas: *Staphylococcus aureus* (6538), e Gram negativas: *Pseudomonas aeruginosa* (9027), *Escherichia coli* (8739), *Klebsiella pneumoniae* (10031). Para leveduras utilizou-se o gênero *Candida albicans* (10231) *C.tropicalis* (66029), *C.parapsilosis* (22019), *C.krusei* (6258) e *C.guilliermondii* (6.260). As foram disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (FioCruz–RJ), sendo as cepas reativadas, em câmara asséptica, seguindo as recomendações da referida Fundação.

Após a reativação, as cepas em suspensão foram transferidas para tubos de ensaio de vidro estéril contendo caldo BHI (Brain and Heart Infusion), sendo incubadas as bactérias à temperatura de 37 °C, e as leveduras à temperatura ambiente por 24 horas, quando então se confirmou o crescimento bacteriano e fúngico (DIAS et al., 2006). Ao final deste período, os microrganismos foram transferidos, com o auxílio de uma alça bacteriológica, para placas de Petri contendo meios de cultura específicos. As bactérias foram repicadas em Ágar Mueller Hinton, as leveduras em Ágar Saboraud.

Posteriormente, as colônias isoladas, das referidas cepas, Figura 2A e B, foram transferidas, com o auxílio de uma alça bacteriológica, para tubos de ensaio de vidro estéril contendo solução salina a 0,9%, até obter uma turvação semelhante 0,5 da Escala de McFarland, o qual confirmou-se em espectrofotômetro, obtendo-se uma absorbância entre 0,08 e 0,1, no comprimento de onda de 625 nm, com o objetivo de se obter cargas microbianas de aproximadamente 10^6 UFC (Unidade Formadora de colônia)/mL (CLSI, 2005).

4.5.2. Teste de sensibilidade microbiana

Foi tomado como referencial, o método da difusão em ágar-cilindro em placas, o qual foi descrito por Esmerino et al. (2004). Para o screening microbiológico, Figuras 3A, B e C, com as bactérias foi utilizado o meio de cultura ágar Mueller-Hinton. Para as leveduras do gênero *Candida*, o meio de cultura Ágar Saboraud.

A partir do inóculo, preparado com a suspensão bacteriana e/ou fúngica, foi produzido a camada de superfície, em uma proporção de 1,0mL da suspensão para 100mL do meio utilizado.

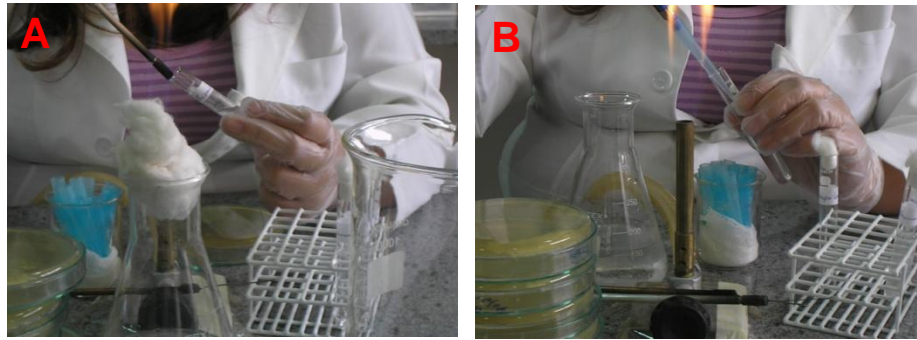


Figura 2A e B. Preparação do inoculo.

Foto: Thiago Pereira Chaves, 2011.

Para a preparação das placas foi utilizado o meio de cultura específico, sendo a camada base preparada numa proporção de 20mL. Esperou-se solidificar, em seguida, sobre essa camada de meio, foram adicionados 5mL do meio de superfície (Figura 3A).

Após a solidificação do meio de superfície, com as duas camadas de meio uniformemente sobrepostas, foram colocados quatro cilindros de aço inoxidável, sobre sua superfície, com diâmetro externo de $8 \pm 0,1$ mm e diâmetro interno de $6 \pm 0,1$ mm e comprimento de $10 \pm 0,1$ mm, Figura 3B, aos quais foram adicionados 100 μ L do extrato (Figura 3C), sendo os ensaios realizados em triplicata. Como controle negativo, foi utilizado álcool a 70%, respeitando a sensibilidade de cada grupo e/ou individualidade dos microorganismos

4.5.3. *Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)*

No teste de CIM foi empregado às cepas que apresentaram inibição de seu crescimento pela ação do extrato hidroalcoólico (100%). Nesta fase foram testadas diluições seriadas do referido extrato, as quais foram obtidas empregando-se procedimento baseado no método adaptado de Stangarlin et al. (1999). Inicialmente, em um tubo de ensaio foram adicionados 5mL do extrato hidroalcoólico da folha e 5mL de álcool a 70%, sendo agitado até a completa homogeneização, obtendo-se uma diluição com concentração final de 1:2 do extrato. A partir desta, utilizando o procedimento de diluição seriada, foram obtidas as demais diluições: 1:4; 1:8; 1:16 e 1:32 (v/v).



Figura 3A, B e C. Teste de sensibilidade microbiana. **A.** Preparação da camada base; **B.** Adição dos cilindros de aço; e **C.** Adição do extrato.

Foto: Thiago Pereira Chaves, 2011.

Após a obtenção das soluções, foi aplicado o mesmo procedimento utilizado no teste de sensibilidade microbiana. Logo após, as placas foram incubadas a 37°C, em estufa, por um período de 24-48 horas, para bactéria e, 48-72 horas para fungo.

4.6. Análise dos dados

Após o período de incubação, a leitura dos testes foi realizada medindo os diâmetros dos halos de inibição (mm) ao redor do cilindro, aferidos com auxílio de um paquímetro digital. O resultado final foi determinado pela média aritmética dos diâmetros dos halos de inibição, obtidos nas triplicatas de cada ensaio.

Foi considerada como possuidora de atividade antimicrobiana a concentração do extrato hidroalcoólico que apresentou um halo de inibição de crescimento igual ou superior a 8,0mm de diâmetro. Para a determinação da CIM foi considerada a menor concentração do referido extrato que apresentou halo de inibição com as mesmas dimensões, citada anteriormente, para o diâmetro (LIMA et al., 2004).

Os resultados obtidos de cada ensaio foram observados, avaliados, anotados, fotografados (halos de inibição) e interpretados. Com base nos resultados, foram elaboradas tabelas onde as medidas dos halos de inibição foram comparadas às diluições do referido extrato da espécie estudada.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela, observam-se os resultados, expressos em médias, para o efeito antimicrobiano extrato hidroalcoólico da *E.uniflora* L. e do controle negativo, assim como, concentração inibitória mínima das soluções do referido extrato frente às cepas de *S.aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. Krusei* e *C. guilliermondii*.

Tabela 1. Médias aritméticas dos halos de inibição (mm) da avaliação da concentração inibitória mínima do extrato hidroalcoólico de *Eugenia uniflora* frente à cepas bacterianas e fúngicas, meio sólido.

Microrganismos	EXTRATO						
	Concentração (ml/ml) / Diâmetro dos Halos (mm)						
	1	1:2	1:4	1:8	1: 16	1: 32	Controle negativo
<i>S. aureus</i>	21,01	13,14	12,73	12,06	11,57	11,07	-
<i>P. aeruginosa</i>	18,44	16,11	14,66	14,08	13,06	11,59	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida Krusei</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida guilliermondii</i>	-	-	-	-	-	-	-

Analisando o efeito inibitório do extrato hidroalcoólico frente às cepas de *S. aureus* e *P. aeruginosa*, Tabela 1 e Figuras 4A e B, observa-se que o referido extrato apresentou atividade antimicrobiana frente a ambas as cepas, em todas as diluições testadas. Tendo o extrato hidroalcoólico bruto formado os maiores halos, 23,24 e 19,5mm, respectivamente, verificando-se também que, os diâmetros dos halos decresceram proporcionalmente, apresentando concentração inibitória mínima (3,13 %) com diâmetros dos halos de 11,07 e 11,59mm, respectivamente.

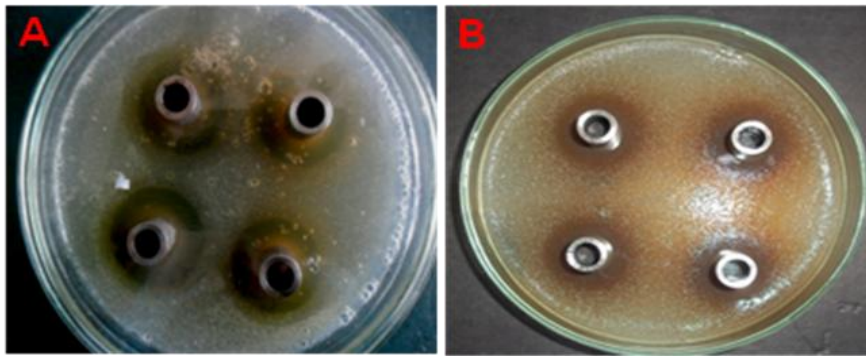


Figura 4A e B. Zona de inibição do extrato hidroalcoólico de *Eugenia uniflora*, frente à: **A.** *S. aureus*; **B.** *P. aeruginosa*.

Foto: Natália Aragão, 2011.

Resultados semelhantes foram obtidos por Auricchio (2001), Holetz et al. (2002), Auricchio e Bacchi (2003), Souza et al. (2004), Gonçalves, Alves e Meneses (2005), Auricchio et al. (2006), Lopes et al. (2006), Fiuza (2009), trabalhando com a *Eugenia uniflora* L. diferindo apenas em termos de concentrações dos extratos e diâmetros dos halos de inibição.

Contrariamente, o mesmo resultado não foi observado, com os microorganismos estudados, por Gonçalves; Alves e Meneses (2005), Bouzada (2007) Diniz et al. (2011), Vale e Orlanda (2011), apesar das referidas espécies vegetais estudadas apresentarem os mesmos compostos fitoquímicos da *Eugenia uniflora*.

A atividade antimicrobiana da *Eugenia uniflora* frente às referidas cepas, ocorreu provavelmente devido à presença dos fitoconstituintes: taninos, fenóis, flavonóides, alcalóides e saponinas. Para Costa et al. (2005) estas substâncias, resultantes do metabolismo secundário das plantas, tem uma função de defesa contra predadores ou atração de agentes polinizadores, porém podem apresentar outras atividades biológicas. Observação confirmada por Cowan (1999), Navarro e Delgado (1999), Djipa, Delmée e Quetin- Leclercq (2000), Taleb-Contini et al.(2003), Monteiro et al.(2005), Mandal, Babu e Mandal (2005), Costa et al. (2005), Avato et al. (2006), Soetam et al. (2006), Souza et al. (2007), Bastos et al.(2008), Min et al. (2008) ao estudarem a atividade antimicrobiana de espécies vegetais, constataram que os referidos fitoconstituintes estariam relacionados a eficiência da atividade antimicrobiana, pois esses compostos foram ativos contra diversos microorganismos, incluindo os analisados em nosso estudo.

Ao analisar a resposta inibitória do extrato hidroalcoólico da *Eugenia uniflora* frente às cepas de *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. Krusei*, *C. guilliermondii*, Tabela 1, constatou-se que, as respectivas cepas mostraram-se resistentes ao referido extrato em todas as diluições testados, não havendo formação de halos. Resultados contrários foram obtidos por Alves et al. (2000), Holetz et al. (2002), Gonçalves, Alves e Meneses (2005), Lopes (2008) que atribuíram a formação dos halos de inibição frente aos microrganismos testados aos compostos fitoquímicos: tanino, fenóis, flavonóides e alcalóides. Enquanto que, Enquanto que Bouzada (2007) ao avaliar a atividade antimicrobiana de 41 plantas utilizadas na medicina popular brasileira, dentre elas *Eugenia uniflora*, Lôbo (2009) com *Solanum paniculatum* e *Operculina hamiltonii*, Diniz et al (2011) com *Pithecelobium cochliocarpum*, Coelho et al. (2003) com *Bixa orellana*, Vieira et al. (2005) com *Struthanthus vulgaris*, Bouzada (2007) ao avaliar a atividade antimicrobiana de 41 plantas utilizadas na medicina popular brasileira, dentre elas *Eugenia uniflora*, Vale e Orlanda (2011) com *Euphorbia tirucalli*, , não observaram a formação de halos de inibição, apesar dos autores identificarem a presença dos fitoconstituintes, citados anteriormente, nas respectivas espécies vegetais, não observaram a formação de halos de inibição, apesar dos autores identificarem a presença dos fitoconstituintes, citados anteriormente, nas respectivas espécies vegetais.

Ao confrontar os resultados das respostas inibitórias (diâmetro do halo) obtidas neste estudo com a literatura, verifica-se que a planta pesquisada apresenta respostas distintas com relação à atividade antimicrobiana. Alves et al. (2000), Holetz et al. (2002), Gonçalves, Alves e Meneses (2005), Lopes (2008) atribuem a formação dos halos de inibição frente ao microrganismo testado a um efeito sinérgico de todos os seus constituintes, compostos fitoquímicos: tanino, fenóis, flavonóides e e alcalóides.

Coelho et al. (2003), Gonçalves, Alves e Meneses (2005), Vieira et al. (2005), Auricchio et al. (2006), Bouzada (2007), Brun e Mossi (2007), Lôbo (2009), Ciolfi (2010), Diniz et al (2011) e Vale e Orlanda (2011) acrescentam que, a ausência de ação antimicrobiana pode ser explicada devido a presença de baixas concentrações de fitoconstituintes, refletindo em baixa atividade da planta, pois as respectivas cepas mostraram-se resistentes aos referidos extratos em todas as diluições. De acordo com Coelho et al. (2003) alguns grupos de isoflavonóides possuem

propriedades antifúngicas, provavelmente a quantidade deste composto no extrato pode ter influenciado nos resultados positivos ou negativos em relação a atividade antimicrobiana.

Adebajo et al. (1989 apud Auricchio e Bachi, 2003), afirmam que fatores qualitativos e quantitativos, influenciam no resultado obtido, dependem do momento da colheita, estação do ano, estágio de maturidade antes da colheita. Para Alves, Tresmondi e Longui (2008) o fato da coleta ter sido realizada em área urbana ou rural pode influenciar a potencialidade antimicrobiana do extrato. Outros fatores como a fase de desenvolvimento do vegetal, o clima, a altitude, o tipo de solo, a radiação solar e o estresse (CECHINEL; YUNES, 1998; LÓPEZ, 2010), mudanças extremas bem como no caso de situações estressantes como queimadas e enchentes (ANTUNES, 2001) interferem na produção de compostos químicos.

Singh e Shukla (1984 apud GONÇALVES; ALVES; MENESES, 2005) afirma que as estruturas químicas dos compostos isolados de plantas, com raras exceções, podem agir como reguladores do metabolismo intermediário, ativando ou bloqueando reações enzimáticas seja agindo no núcleo do microorganismo ou no ribossomo, ou mesmo alterando estruturas presentes na membrana.

Quanto a metodologia empregada, de acordo com Lenette et al. (1987), a velocidade de difusão das substâncias no ágar influencia o tamanho da zona de inibição de crescimento no teste.

É interessante notar que o extrato da *Eugenia uniflora* apresenta atividade antimicrobiana frente às Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativa (*Pseudomonas aeruginosa*), Tabela 1, as quais se diferem quanto à estrutura de sua membrana (SILVA, 2010) normalmente bactérias Gram-negativa apresentam resistência aos antibióticos devido à diminuição da permeabilidade que ocorre em sua membrana externa (MOREIRA; FREIRE, 2011), os resultados sugerem que flavonóides, saponinas e alcaloides, podem estar contribuindo para a atividade antimicrobiana observada contra as cepas Gram-positivas e, especialmente, contra as cepas Gram-negativas. Observação reforçada por Duke's (1994), Iwu et al. (1999 apud Coelho et al., 2003), Cowan (1999), Felizardo (2005) e Vieira et al. (2005) os quais concluíram em seus referidos trabalhos, que as respectivas substâncias foram responsáveis pela atividade antimicrobiana frente as bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas.

Observando o mecanismo de ação dos flavonóides, de acordo com Cowan (1999), esta é devida à habilidade deste grupo de se complexar com proteínas solúveis e extracelulares e também com a parede de células bacterianas. Muitos flavonóides lipofílicos teriam a capacidade de romper as membranas microbianas, podendo romper inclusive a membrana de uma bactéria Gram-negativa.

Esse estudo se torna importante, por ter sido encontrado na literatura poucos trabalhos referentes ao efeito antimicrobiano do extrato hidroalcoólico da *Eugenia uniflora* frente às cepas testadas, existindo, porém, um maior número de trabalhos nessa linha de pesquisa com o óleo da referida planta (RISSATO; ALMEIDA; SILVA, 2004; BRUN e MOSSI, 2007; PAROUL et al.,2007; LOPES, 2008; OLIVEIRA et al., 2009; CIOLFI, 2010; VICTORIA; SAVEGNAGO; LENARDÃO, 2011).

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, nas condições do ensaio, conclui-se que o extrato hidroalcoólico de folhas da *Eugenia uniflora* apresentou efeito inibitório frente às cepas *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, com concentração inibitória mínima de 3,13%, constituindo em um meio medicinal alternativo com atividade anti-infectiva sobre as referidas cepas. Por outro lado, não nos permite afirmar que a referida espécie vegetal não pode ser usada como alternativa contra as demais espécies bacterianas e fúngicas avaliadas. Portanto, sugere-se a realização de estudos com solventes de diferentes polaridades.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, T. M. A. et al. Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 3, p. 367-373, 2000.
- ALVES, E.S.; TRESMONDI, F.; LONGUI, E. L. Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 1, p. 241-248, 2008.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Ministério da Saúde**. Disponível em: <<http://g1.globo.com/Noticias/Brasil/>>. Acesso em: 16 de mar. 2011.
- AURICCHIO, M. T. et al. Atividades Antimicrobiana e Antioxidante e Toxicidade de *Eugenia uniflora*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 1, n. 26, p. 78-81, 2006.
- AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 1, p. 55-61, 2003.
- AURICCHIO, M.T. **Estudo farmacognóstico de folhas de *Eugenia uniflora* L.** 2001. 128f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- AVATO, P. et al. Antimicrobial activity of saponins from *Medicago* sp.: structure activity relationship. **Phytotherapy research**, v. 20, n. 6, p. 454-457, 2006.
- AZEVEDO, M. L.; CHIM, J. F.; SILVA, J. A. Avaliação do potencial antioxidante de extratos de Pitanga (*Eugenia uniflora* L.) obtidos com diferentes solventes. In: Encontro de Pós-graduação, 12. , 2010, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPEL, 2010.
- BASTOS, M. L. A. et al. Flavonóides e Atividade Antimicrobiana do Caule de *Zeyheria tuberculosa* (Vell) Bur. (Bignoniaceae). In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia – SP. **Anais eletrônicos...** Águas de Lindóia – SP: Instituto de Química da USP, 2008. Disponível em:<<http://sec.s bq.org.br/cdrom/31ra/resumos/T0479-1.pdf>>. Acesso em: 12 mar. 2012.
- BENVINDO, F. S. et al. Avaliação da Atividade Antimicrobiana in vitro do extrato hidroalcolóico de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville sobre isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. **Rbac: Revista brasileira de análises clínicas**, v. 1, n. 42, p. 27-31, 2010.

BOUZADA, M. L. M. et al. Busca de novas drogas antimicrobianas a partir de vegetais. **Principia – Caminhos da Iniciação Científica**, v.11, 2007. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/principia/edicoes-on-line/principia-caminhos-da-iniciacao-cientifica-vol-9-2007>>. Acesso em: 05 Jun 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução nº 48, de 2004. Aprova o regulamento técnico de medicamentos fitoterápico junto ao Sistema Nacional de Vigilância Sanitária. DOU. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 mar. 2004. Disponível em: <portal.saude.gov.br/.../rdc_48_16_03_04_registro_fitoterapicos%20.pdf>. Acesso em: 05 maio 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, 2009. 136 p.

BRUN, G. R.; MOSSI, A. J. Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de pitanga (*Eugenia unifora* L.). **Perspectiva**, v. 34, n. 127, p. 135-142, 2007.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Quím. Nova**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

CHERNOVIZ, P. L. N. **A Grande Farmacopéia Brasileira**. Formulário e Guia Médico. 19. ed. Belo Horizonte: Itatiaia, 1920.

CIOLFI, F. Potencial antimicrobiano de extratos e óleos essenciais de vegetais não tradicionais sobre patógenos de origem alimentar. 2010. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade federal de viçosa, Viçosa, 2010.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana**: 15° Suplemento Informativo, v. 25, n. 1, 2005.

COELHO, A. M. S. P. et al. Atividade antimicrobiana de *Bixa orellana* L. (Urucum). **Revista Lecta**, v. 21, n. 1-2, p. 47-54, 2003.

CORRÊA, M. P. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984, p. 512.

COSTA, J. G. M. et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente a larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 304-309, 2005.

COUTO, R. O. et al. Caracterização físico-química do pó das folhas de *Eugenia dysenterica* dc. (Myrtaceae). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 3, p. 59-69, 2009.

COWAN, M. Plant products as Antimicrobial Agents. **Rev. Clin. Microbiol**, v. 12, p. 564-582, 1999.

DANTAS, I. C.; FELISMINO, D. C.; DANTAS, G.D.S. Plantas medicinais. In: Ivan Coelho Dantas (ed.). **O raizeiro**. 1. ed. Campina Grande; EDUEP, 2007. p. 346-347.

DIAS, J. F. et al. Atividade antibacteriana e antifúngica de extratos etanólicos de *Aster lanceolatus* Willd. Asteraceae. **Rev. Bras. Farmacogn**. v. 16, n. 1, p. 83-87, 2006.

DINIZ, J.F. et al. Estudo *in vitro* da atividade antimicrobiana de *Pithecelobium cochliocarpum* Gomez J.F. Macbr. **BioFar**, v. 6, n. 1, 2011.

DJIPA, C.D.; DELMÉE, M.; QUETIN-LECLERCQ, J. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 307-313, 2000.

DUARTE, M. C. Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. **MultiCiência**, 2006. Disponível em: <http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_05_7.pdf>. Acesso em: 16 maio 2012.

DUKE'S, J. **Phytochemical and ethobotanical databases**, 1994. Disponível em: <<http://www.ars-grin.gov/duke>>. Acesso em: 09 jun. 2012.

ESMERINO, L. A. Método microbiológico para determinação da potência de antimicrobianos. **Rev. Ci. Biol. Saúde**, v. 10, n. 1, p. 53-60, 2004.

FADEY, M. O. ; AKPAN, U. E. Antibacterial activities of the leaf extracts of *Eugenia uniflora* Linn. (synonym, *Stenocalyx michelii* Linn.), Myrtaceae. **Phytotherapy Research**. v. 3, p. 154-155, 1989.

FARIAS, N. M. P.; CASIMIRO, G. S.; LIMA, E. O. Atividade antifúngica de extratos e óleos essenciais obtidos de plantas medicinais contra leveduras do gênero *Candida* - Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 8., 2000, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: UFPB, 2000. p. 5.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5 ed. São Paulo: Fiocruz, 1988. Parte 1

FELIZARDO, A. **Agentes antibacterianos de origem vegetal e animal**: seu efeito sobre bactérias gram-negativas e gram-positivas. 2005. Disponível em: <http://www.csv.unesp.br/P_coloquio_2005/resumo_alex.html>. Acesso em: 09 jun. 2012.

FIUZA, T.S. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). **Revista eletrônica de farmácia**, v. 5, n. 2, p. 01-11, 2008.

FIUZA, T.S. **Bioatividade de extratos e frações das folhas da *Eugenia uniflora* L. e da *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) Harley em microrganismos (bactérias e fungo) e em *Oreochromis niloticus* L.** 2009. 39 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO, 2009.

FIUZA, T. S. et al. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). **Revista eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 2, 2008.

FRANÇA, I.S.X. et al. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 2, p. 201-208, 2008.

GONÇALVES, A.L; ALVES, A.F.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.

HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

LENETTE, E.H. et al. **Manual de microbiologia clinica**. 4. ed. Buenos Aires: Medica Panamericana.

LIMA, E. O. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre dermatófitos isolados de *Tinea capitis*. **Laes & Haes**, v. 25, n. 150, p. 200-212, 2004.

LIMA, V.L.A.G; MELO, E.A; LIMA, D.E.S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agricola**, v.59, n.3, p.447-450, 2002.

LÔBO, K. M. S. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum maniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples, do semiárido paraibano. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 12, n. 2, p. 227-233, 2010.

LOPES, D.C.D.X.P. et al. Atividades antimicrobiana e fototóxica de extratos de frutos e raízes de *Physalis angulata* L.. **Rev. bras. farmacogn**, v. 16, n. 2, p. 206-210, 2006.

LOPES, M. M. **Composição química, atividade antibacteriana e alelopática dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. e *Myrciaria glazioviana* (Kiaersk) G.M. Barroso e Sobral (MYRTACEAE)**. 2008. 48f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, Minas Gerais, 2008.

LÓPEZ, P. V. A. **Bioprospecção de extratos de *Croton urucurana* Baillon e seus fungos endofíticos**, 2010. 138f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Plantarum, 2002.

MALAFAIA, O. et al. Os fitoterápicos e seu potencial na cicatrização em cirurgia. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, n. 3, 2006.

MANDAL P.; BABU, S.; MANDAL N. C. **Antimicrobial activity of saponins from *Acacia auriculiformis***, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X05000444>>. Acesso em: 25 maio 2012.

MONTEIRO, J. M. et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Quím. Nova**, vol. 28, n. 5, p. 892-896, 2005. .

MIN, B. R. et al. Comparative antimicrobial activity of tannins extracts from perennial plants on mastitis pathogens. **Scientific Research and Essay**, v. 3, n. 2, p. 6673, 2008.

MOURA, J. P. **A adesão dos profissionais de enfermagem às precauções de isolamento na assistência aos portadores de microrganismos multirresistentes**. Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, 2004. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/22/22132/tde-12082004-125447/pt-br.php>>. Acesso em: 10 dez. 2011.

MOREIRA, V.C; FREIRE, D. *Klebsiella pneumoniae* e sua resistência a antibióticos. In: MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA DA PÓS-GRADUAÇÃO LATU-SENSU DA PUC DE GOIÁS, 6., 2011, Goiás. **Anais eletrônicos...** Goiás: PUC, 2011. Disponível em:<<http://www.cpgls.ucg.br/6mostra/Artigos4.html>>. Acesso em: 21 mai. 2012.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFAÜER, M. A.. **Microbiología Médica**. 5. ed. Madrid: Elserver España, 2006.

NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C. Antibacterial activity of plant extract and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Braz J. Microbiol**, v. 31, n. 4, p. 247-256, 2000.

NAVARRO, V. DELGADO, G. Two antimicrobial alkaloids from *Bocconia arborea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, p. 223-226, 1999.

OLIVEIRA, M.F.S. **Fitoterapia e biodiversidade no Brasil: saúde, cultura e sustentabilidade**. 2005. Disponível em: <http://www.manizales.unal.edu.co/modules/unrev_ideasAmb/documentos/IAedicion2Art05.pdf>. Acesso em: 20 maio 2012.

OLIVEIRA, C. B. et al. Atividade antimicrobiana in vitro da *Eugenia uniflora* L. (pitanga) sobre bactérias cariogênicas. **Revista brasileira de Ciências da Saúde**, v. 12, n. 3, p. 239-250, 2008.

OLIVEIRA, C.B. et al. Avaliação da eficácia da descontaminação de escovas dentárias pelo uso do spray de óleo essencial da *Eugenia uniflora* L. (Pitanga). **Cienc. Odontol. Bras.**, v. 2, n. 12, p. 29-34, 2009.

PAROUL, N. et al. **Avaliação química e antimicrobiana do óleo essencial de Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)**. 2007. Disponível em: <sec.sbq.org.br/cdrom/30ra/resumos/T0364-2.pdf>. Acesso em: 20 maio 2011.

PÉREZ, P. et al. Surface properties of bifidobacterial strains of human origin. **Applied Environmental Microbiology**, v. 64, p. 21-26, 1998.

PÉREZ, Rosa Maria Daza. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en La práctica diária. **Inf. ter. Sist. Nac. Salud.**, n. 22, p. 57-67, 1998.

RISSATO, S. R.; ALMEIDA, M. V; SILVA, L. C. Estudo do óleo essencial de *Eugenia uniflora* como subsídio para a aplicação como fitofármaco. **Solusvita**, v. 23, n. 2, p. 209-222, 2004.

RODRIGUES, E. A. C. et al. **Infecções Hospitalares: prevenção e controle**. São Paulo: Sarvier, 1997.

SCHMEDA-HIRSCHMAN, G. et al. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves: xanthine oxidase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 21, p. 183-186, 1987.

SEGOVIA, J. F. O. et al. **Prospecção de Atividade Biológica em Extratos Crus de Espécies Amazônicas Contra Bactérias Resistentes a maioria dos antibióticos**. 2008. Disponível em: <http://www.embrapa.br/eventos/inovaecria/comunicacoes/118_prospeccaoatividadebiologica_jorgesegovia_cpafap_0822_1912.pdf/view?searchterm=SEGOVIA> . Acesso em: 20 fev. 2011.

SILVA, N. C. C. **Estudo comparativo da ação antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais e sinergismo com drogas antimicrobianas**. 2010. 75f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) - Universidade Estadual Paulista. Botucatu, São paulo, 2010.

SILVA, V.A. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana do extrato da *Lippia sidoides* Cham. sobre isolados biológicos de *Staphylococcus aureus*. **Rev. Bras. Plantas Med.**, v. 12, n. 4, p. 452-455, 2010.

SOETAN, O. et al. Evaluation of the antimicrobial activity of saponins extract of *Sorghum bicolor* L. Moench. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 23, p. 2405-2407, 2006.

SOUZA, G.C. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **ScienceDirect**, v. 90, n. 1, p. 135-143, 2004. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874103003611>>. Acesso em: 03 maio 2012.

SOUZA, J. S. B. S. et al. **Estudo da Atividade Antimicrobiana dos Extratos Brutos Obtidos de Folhas de Plantas da Família Myrtaceae**. Disponível em: <<https://uspdigital.usp.br/siicusp/cdOnlineTrabalhoVisualizarResumo?numeroInscricaoTrabalho=3162&numeroEdicao=17>>. Acesso em: 12 fev. 2012.

SOUZA, T. M. et al. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 2, p. 221-226, 2007

STANGARLIN, J. R. et al. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 11, p. 16-21, 1999.

TALEB-CONTINI, Sílvia Helena et al. Antimicrobial activity of flavonoids and steroids isolated from two *Chromolaena* species. **Rev. Bras. Cienc. Farm**, v. 39, n. 4, p. 403-408, 2003.

TOLEDO, N. M. V.; AQUINO, L. M.; PORTO, E. **Estudo da atividade antimicrobiana de extratos vegetais de *Eugenia uniflora* (pitanga) e *Psidium guajava* (goiabeira) sobre *Salmonella enteritidis***. 2009. Disponível em: <www.usp.br/siicusp/Resumos/17Siicusp/resumos/1750.pdf>. Acesso em: 20 maio 2011.

VALE, V. V.; ORLANDA, J. F. F. Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico das partes aéreas de *Euphorbia tirucalli* Linneau (Euphorbiaceae). **Scientia Plena**, v. 7, n. 4, 2011.

VICTORIA, F. N.; SAVEGNAGO, L.; LENARDÃO, E. J. Atividade Antioxidante *in vitro* do óleo essencial de Pitanga. In: XIII ENPOS, 2011, PELOTAS. **Anais eletrônicos...** Pelotas: UFPEL, 2011. Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/enpos/2011/anais/pdf/CB/CB_00360.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2012.

VIEIRA, O. M. C. et al. Atividade antimicrobiana de *Struthanthus vulgaris* (erva-de-passarinho). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 149-154, 2005.

VIZZOTTTO, M. **Pitanga: uma fruta especial**. Brasília: EMBRAPA, 2008. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/embrapa/imprensa/artigos/2008/pitanga-uma-fruta-especial-2>>. Acesso em: 20 maio 2011.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL, V. F. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422001000100025&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 02 fev. 2011.