



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**

VANGERLAN TIAGO LOPES GOMES

**ESTUDO *in vitro* DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DA *Myracrodruon*
urundeuva Fr. All.**

**CAMPINA GRANDE-PB
2011**

VANGERLAN TIAGO LOPES GOMES

ESTUDO *In vitro* DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DA
Myracrodruon urundeuva **Fr. Ail.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
como parte das atividades para obtenção do
título de graduado, do curso de Farmácia,
pela Universidade estadual da Paraíba.

Orientadores: Prof. DSc. Delcio de Castro Felismino
Prof. MSc Ivan Coelho Dantas

CAMPINA GRANDE-PB
2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

G633e Gomes, Vangerlan Tiago Lopes.
Estudo in vitro da ação antimicrobiana da
Myracrodruon urundeuva Fr. ALL [manuscrito]
/Vangerlan Tiago Lopes Gomes. – 2011.

40 p.: il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em
Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de
Ciências Biológicas e da Saúde, 2011.

“Orientação: Prof. Dr. Delcio de Castro Felismino,
Departamento de Biologia”.

1. Aroeira-do-sertão. 2. Maceração. 3. Microorganismos.
I. Título.

21. ed. CDD 579

Vangerlan Tiago Lopes Gomes

ESTUDO *in vitro* DA AÇÃO ANTIMICROBIANADA

MyracrodruonurundeuvaFr.All.

Aprovada em: 20/12/2013

Nota: 8,0 (Oito)).

BANCA EXAMINADORA:

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

Ana Cláudia D. de Medeiros
Prof. DSc. Ana Cláudia Dantas de Medeiros/DF/UEPB
Examinadora

Thiago Pereira Chaves
Esp. Thiago Pereira Chaves
Examinador

DEDICO à minha esposa *Giullianny Borges*, que tanto me apoiou nas horas difíceis, me incentivando sempre, a minha filha amada *M^a Victória*, minha fonte inspiradora e a todos que me ajudaram a chegar até aqui. Nada se faz sozinho...

AGRADEÇO a Deus, minha fonte de forças;

Aos meus pais Vicente Neto e Valquiria Rejane, por todo amor dedicado ao longo da minha vida;

A toda minha família, por ter acreditado em mim e dado todo apoio e incentivo para prosseguir;

Aos meus Orientadores Prof. DSc. Delcio de Castro Felismino e Prof. MSc Ivan Coelho Dantas que, com rigor e dedicação, conduziram-me brilhantemente no percurso deste trabalho;

Ao Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM), pela realização das análises, particularmente aos amigos Thiago e Layanne pelo carinho com que colaboraram com este projeto, por trabalharmos juntos e terem me apoiado neste trabalho;

A todos os professores do curso de Farmácia da UEPB;

Enfim, a todos, os meus sinceros agradecimentos.

Vangerlan T. L. Gomes

RESUMO

Myracrodruon urundeuva Fr. All., espécie arbórea conhecida como aroeira-do-sertão é largamente usada na medicina popular do nordeste brasileiro para tratamento de diversas infecções. Neste estudo avaliou-se a ação antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcoólico fluído obtido através das cascas da referida planta. Para o *screening* microbiológico, foi utilizado o método de difusão em disco em meio sólido, sendo o extrato obtido por maceração a frio e submetido à diluição seriada (100, 50, 25, 12,5 e 6,25%) para a determinação d CIM. Foi verificada sua atividade antimicrobiana, frente a um painel de microrganismos, incluindo bactérias Gram positivas e negativas e leveduras do gênero *Candida*. Constatou-se atividade antimicrobiana do extrato frente às *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterococcus faecalis*, não apresentando inibição frente à *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. guillhermondi*. Os resultados obtidos apontam a necessidade da realização de novos estudos, pois esse vegetal demonstrou possuir considerável potencial terapêutico antimicrobiano.

Palavras-chaves: Aroeira-do-sertão; maceração; microrganismos; resistência; concentração inibitória mínima.

ABSTRACT

Myracrodruon urundeuva Fr. All., Mastic tree species known aroeira-do-sertão, widely used in folk medicine in northeastern Brazil for the treatment of various infections. In the present study evaluated the in vitro antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract fluid obtained from the bark of this plant. For the evaluation of the screening, we used the disk diffusion method on solid medium, and the extract obtained by maceration and submitted to serial dilutions (100, 50, 25, 12.5 and 6.25%). Its antimicrobial activity was observed, compared to a panel of microorganisms, including Gram positive and negative and fungi (*Candida*). It was found antimicrobial activity of the extract against *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Enterococcus faecalis*. Not showing inhibition front of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* and *C. guillhermondi*. Based on the results obtained indicate the need for further studies because this plant has shown considerable therapeutic potential antimicrobial.

Keywords: Aroeira-do-sertão; maceration; microorganisms, resistance, minimum inhibitory concentration.

LISTA DE TABELA

	Página
Tabela 1 - Valores das médias dos halos de inibição (mm) da avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) pelo método de difusão em Agar – técnica do disco.	27

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All.	15
Figura 2 – Cascas da aroeira-do-sertão.	16
Figura 3A, B e C – Repicagem das cepas.	24

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	11
2. FUNDAMENTAÇÃO TEORICA	13
2.1. Fitoterapia	13
2.1.1. <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr.All.	14
2.2. Resistência bacteriana	17
3. OBJETIVOS	21
3.1. Geral	21
3.2. Específico	21
4. METODOLOGIA	22
4.1. Obtenção do material vegetal, localização e época da coleta	22
4.1.1. Secagem	22
4.1.2. Moagem	22
4.2. Obtenção do extrato hidroalcoólico	23
4.3. Cepas de microrganismos	23
4.4. Preparação das soluções dos extratos hidroalcoólico	24
4.5. Análise microbiológica	25
4.6. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)	25
4.7. Análise dos dados	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1. Leitura e mensuração dos resultados	27
6. CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33

1. INTRODUÇÃO

Os registros escritos do uso de plantas medicinais com fins terapêuticos remontam ao início da civilização, confundindo-se com nossa história. Desde o momento em que o homem despertou para as suas necessidades, começou um longo percurso de manuseio, adaptação e modificação dos recursos naturais para o próprio benefício (DI STASI, 1996; NOVAES et al., 2003)

As pessoas utilizam plantas na preparação de remédios há tempos, pois elas, com os princípios ativos, tinham poder terapêutico e eram consideradas plantas medicinais (NOVAES et al., 2003). O uso destas plantas no combate das doenças é tão antigo quanto á humanidade (OLIVEIRA; AKISUE, 1998).

A utilização de muitas plantas, ao longo do tempo, se deve graças a informações provindas da tradição e de culturas centenárias e milenares. Os indígenas do Brasil ou da América, no decorrer da história desenvolveram sua sabedoria e conhecimento, assim como os chineses o fizeram ao longo de toda sua existência (NOVAES et al., 2003).

Há ainda hoje, muitas comunidades e grupos étnicos, principalmente aqueles com condições sócio-econômicas menos favorecidas, utilizam plantas medicinais como principal, e muitas vezes, único recurso para o alívio de seus males (CAETANO et al., 2002; MACIEL et al., 2002). Além disso, a fitoterapia é uma prática terapêutica tradicional recomendada internacionalmente pela OMS como forma de apoio á ações de atendimento primário a saúde (AKERELE; SYNGE, 1991; WENIGER, 1991).

Segundo Hamilton (2003), as plantas tem sido uma fonte valiosa de produtos para manutenção da saúde humana, sendo mais difundidas especialmente nos últimos anos, após estudos com produtos terapêuticos oriundos de plantas medicinais. Tais plantas representam a principal matéria médica utilizada pelas chamadas medicinas tradicionais, ou não ocidentais, em suas práticas terapêuticas, sendo a medicina popular a que utiliza o maior numeram de espécies diferentes.

Devido ao aumento da resistência de microrganismos patogênicos a vários antimicrobianos, volta-se a atenção para a busca de novas drogas com potencial terapêutico, dentre elas, as plantas medicinais estão entre os produtos naturais, de

grande interesse científico, pois os vegetais que tiveram sua eficácia comprovada são possíveis matérias-primas para medicamentos (DIAS et al, 2006; SILVA et al, 2007).

A aroeira-do-sertão é largamente usada na medicina popular do nordeste brasileiro para o tratamento de problemas dermatológicos e ginecológicos (MATOS, 2002), sendo verificadas experimentalmente sua atividade cicatrizante (VIANA et al., 1995), antiinflamatória e antiulcerogênica (MENEZES; RAO, 1986).

Assim sendo, levando-se em consideração a possibilidade da ação antimicrobiana da aroeira-do-sertão, o propósito deste estudo é verificar *in vitro* a atividade antibacteriana e antifúngica do extrato vegetal dessa espécie sobre determinadas cepas de microrganismos patogênicos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Fitoterapia

Inicialmente, os fitoterápicos eram aplicados na população pelo método de tentativa e erro, com as pesquisas científicas buscando aprender cada vez mais a respeito do princípio ativo de cada planta e o seu efeito sobre o organismo humano, podendo a população em geral, ser beneficiada. Xavier, Ramos, Ramos Filho (1995), acrescentam que há muito a aprender sobre a vasta variedade de plantas existentes na flora brasileira.

A história da fitoterapia confunde-se com a história da farmácia, pois até o século passado, os medicamentos utilizados eram basicamente à base de plantas medicinais. Durante a revolução industrial e com o aumento da produção dos compostos terapêuticos sintéticos mais puros, houve um aumento na preferência pelos medicamentos industrializados, agravados pelo difícil controle de qualidade dos extratos vegetais (TOLEDO, 2002). Porém, com o crescente interesse pelas terapias alternativas, as plantas medicinais voltaram a ser estudadas (RIBEIRO; LEITE; DANTAS-BARROS, 2005).

De acordo com Homar (2005), a atenção dirigida pelas autoridades e administrações de saúde para o uso de plantas medicinais aumentou consideravelmente nos últimos anos, por diferentes razões e em diferentes setores. Incentivo em investimentos públicos em plantas medicinais tem sido feito pela OMS desde 1978, observando-se crescente aceitação da fitoterapia por profissionais de saúde da atenção básica assim como a observação do aumento de seu uso pela população.

Segundo Lehir (1985) e Di Stasi et al. (1994), no Brasil, assim como em outros países latino-americanos, a fitoterapia tornou-se uma alternativa terapêutica econômica em relação aos medicamentos alopáticos, caracterizando-se pela utilização direta de planta no tratamento das doenças.

A Biodiversidade brasileira é uma das mais ricas do planeta, com milhares de exemplares em sua flora, estando o Brasil entre os sete países considerados

“megadiversidades” com cerca de 50% das espécies vegetais do mundo (NODARI; GUERRA, 2000).

Respondendo a estas demandas, segundo Ribeiro, Leite, Dantas-Barros (2005), autoridades brasileiras têm atuado, principalmente via Ministério da Saúde, que tem estimulado o uso de fitoterápicos seguros e com base técnico-científica.

A legislação em vigor no país define como fitoterápico

aquele medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos do seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança são validadas através de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações técnico-científicas em publicações ou ensaios clínicos fase 3 (BRASIL, 2004).

A indústria farmacêutica brasileira recebeu nova regulamentação para o registro de fitoterápicos, através da publicação, em fevereiro de 2000, da RDC 17 (BRASIL, 2000). Desde então, o mercado nacional teve de se adequar às novas regras, de forma a garantir a qualidade, eficácia e segurança desta modalidade de medicamento. Em março de 2004, esta Resolução foi revogada pela publicação de uma nova Resolução, a RDC 48 (BRASIL, 2004). Apesar da RDC 48 trazer algumas mudanças conceituais em relação à legislação anterior, na tentativa de se adequar a outras normas de medicamentos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o critério de registro para fitoterápicos não apresentou grandes modificações (BRASIL, 2004).

2.1.1. *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.

Myracrodruon urundeuva Fr. All. conhecida popularmente como aroeira, aroeira-do-sertão ou urundeúva (Figura 1), é uma espécie decídua, heliófita e seletiva xerófito (LORENZI, 1992). Seu limite de distribuição natural se estende pelas Regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil até a região chaquenha da Bolívia, Paraguai e Argentina (SANTIN e LEITÃO-FILHO, 1991; LORENZI, 1992; CARVALHO, 1994; GURGEL-GARRIDO et al., 1997). Nas Florestas Estacionais Deciduais do norte de Minas Gerais, a aroeira ocorre freqüentemente nas matas secas calcárias e na caatinga arbórea (BRANDÃO, 1994; SANTOS et al., 2007).



Figura 1: *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.
Fonte: <http://www.terra.com.br/istoe>

O porte da aroeira varia conforme a região de sua ocorrência (LORENZI, 1992; ANDRADE et al., 2000), podendo atingir 30 m de altura (RIZZINI, 1971). Geralmente, a espécie floresce entre julho e setembro, e a maturação dos frutos ocorre de setembro a outubro (LORENZI, 1992; ANDRADE et al., 2000). A polinização de *M. urundeuva* é realizada por abelhas, e a dispersão dos diásporos é anemocórica. Seus frutos são do tipo drupa globosa ou ovóide, com cálice persistente, considerado um fruto-semente (FIGUEIRÔA et al., 2004). A semente é única (0,2 a 0,4 cm de diâmetro), globosa, desprovida de endosperma, com epicarpo castanho escuro, mesocarpo castanho, carnoso, resinífero, com odor característico e tegumento membranáceo (MEDEIROS, 1996; ALMEIDA et al., 1998).

As raízes são usadas no tratamento de reumatismo e as folhas são indicadas para o tratamento de úlceras (ALMEIDA et al., 1998). Além disso, sua madeira, em função da durabilidade e dificuldade de putrefação, é muito usada na construção civil como postes ou dormentes para cercas, na confecção de móveis de luxo e adornos torneados (ALMEIDA et al., 1998; LORENZI, 1992). No entanto, devido aos seus princípios alergênicos, a árvore não deve ser cultivada em locais de fácil acesso ao público (ALMEIDA et al., 1998).

Várias substâncias foram detectadas nas cascas (Figura 2) da *Myracrodruon urundeuva*, como compostos fenólicos, óleos essenciais e taninos e seus precursores. E estão presentes no extrato desta planta, podendo apresentar ação

antimicrobiana e antiinflamatória, tendo sido demonstrada, *in vitro*, atividade contra diversas espécies de bactérias e fungos (XAVIER, RAMOS, RAMOS FILHO, 1995).



Figura 2: Cascas da aroeira-do-sertão
Fonte: <http://www.terra.com.br/istoe>

A planta inteira é utilizada externamente como anti-séptica no caso de fraturas e ferida exposta. O óleo essencial é o principal responsável por várias atividades desta planta, especialmente a ação antimicrobiana contra diversos tipos de bactérias e fungos, bem como a atividade repelente contra mosca doméstica. Este óleo essencial, rico em monoterpenos, é indicado em distúrbios respiratórios, sendo eficaz em micoses, candidíases (uso local) e alguns tipos de câncer (carcinoma, sarcoma, etc.). Possui ação regeneradora dos tecidos e é útil em escaras, queimaduras e problemas de pele (MATOS, 1998).

É indicada no tratamento de estomatites (XAVIER, RAMOS, XAVIER FILHO, 1995). Estudos indicam que o extrato fluído hidroalcoólico da casca da aroeira-do-sertão apresenta excelentes efeitos antiinflamatório, cicatrizante e anti-úlceras, aliado a comprovada ação anti-histamínica e anti-bradicinina, além de ações antimicrobianas frente *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Sacharomyces cerevisiae* e *Candida albicans* (MATOS, 1998) e várias bactérias gram-positivas (MELO JÚNIOR, 2000).

A aroeira-do-sertão apresenta como constituintes químicos, ainda, uma casca muito rica em substâncias ativas, flavonóides, além de duas chalconas dimétricas, as urundeuvinas A e B, de forte ação antiinflamatória. Ensaios farmacológicos comprovaram suas ações adstringente, antiinflamatória, antialérgica e cicatrizante,

especialmente em uso local. Suas propriedades são indicadas no tratamento de ferimentos infeccionados ou não, na pele ou, especialmente, nas mucosas. Por via oral leva a cura da gastrite e de úlceras do estômago e do duodeno. Por via local é eficaz nos casos de inflamações da pele e das mucosas como gengivas, garganta, do aparelho genital feminino. Especialmente útil nos casos de cervicite (ferida no colo do útero) e de hemorróidas inflamadas (MATOS, 2002).

A atividade antibacteriana, antifúngica e antiinflamatória do extrato da aroeira-do-sertão, possivelmente, está associada à presença de certos composto químicos, em especial de taninos, além de compostos presentes em menor quantidade, como os alcalóides, esteróides, chalconas e urundeuvinas (MATOS, 1994; OLIVEIRA, 1993).

2.2. Resistência microbiana

A partir da década de 50, a revolução no tratamento das doenças bacterianas, com a descoberta e uso da penicilina, provocaram em muitos uma enorme euforia, a ponto de originar a previsão precipitada de que as doenças bacterianas estariam vencidas e, em breve, seguramente esquecidas. Os cientistas sentiram-se livres para direcionar seus esforços contra outras ameaças urgentes à saúde tal como as doenças virais. Entretanto, as bactérias patogênicas desenvolveram progressivamente resistência a uma variedade de antibióticos (MURRAY et al., 1999; SANDER et al., 2001, PEREIRA et al., 2004).

O uso indiscriminado de antimicrobianos provocou, a partir da década de 70, um processo de aceleração do aparecimento de cepas bacterianas resistentes aos antimicrobianos, especialmente nos ambientes hospitalares (LINARES-RODRIGUES; MARTINEZ-MENENDEZ, 2005; WAGENLEHNER; WEIDNER; NABER, 2005).

No decorrer das últimas décadas, o desenvolvimento de fármacos eficientes no combate a infecções bacterianas revolucionou o tratamento médico, ocasionando a redução drástica da mortalidade causada por doenças microbianas (RANG, 2001). Por outro lado, a disseminação do uso de antibióticos lamentavelmente fez com que as bactérias também desenvolvessem defesas relativas aos agentes antibacterianos, com o conseqüente aparecimento de resistência (VARALDO, 2002). A resistência microbiana refere-se a cepas que são capazes de multiplicar-se na

presença de concentrações de antimicrobianos mais alto do que provêm de doses terapêuticas dadas a seres humanos (WANNMACHER, 2004).

Com o evento da resistência bacteriana aos antimicrobianos, surgiram 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 (MOURA, 2004; RODRIGUES, 1997).

Muitos fatores contribuem para o desenvolvimento da resistência bacteriana aos antimicrobianos, porém um dos principais é a exposição repetida a estas substâncias (CATAO, 2006). O fenômeno da resistência bacteriana a diversos antibióticos e agentes quimioterápicos impõe sérias limitações às opções para o tratamento de infecções bacterianas, representando uma ameaça para a saúde pública (WISE, 2003).

Segundo Flórez (1997), a resistência microbiana ocorre basicamente devido a dois mecanismos: a mutação e a transmissão de informação genética. No primeiro caso, um gene de resistência pode aparecer por mutação de um gene bacteriano que possui uma atividade diferente, enquanto o segundo ocorre quando uma bactéria que apresenta plasmídeo de resistência e o transfere através dos mecanismos de conjugação bacteriana. Nesse último caso, pode ocorrer que um mesmo gene confira resistência a vários antibióticos do mesmo ou de diferentes grupos.

O uso indiscriminado e prolongado de antimicrobianos químicos sintéticos tem levado à seleção de microrganismos patogênicos mutantes resistentes a esses compostos, tornando o uso de antimicrobianos de origem natural uma alternativa eficaz e econômica (CRISAN et al., 1995). Tem sido crescente a investigação da potencialidade antimicrobiana de produtos vegetais (ANDREMONT, 2001).

A resistência bacteriana aumenta principalmente para aquelas bactérias patogênicas mais freqüentemente isoladas de amostras humanas, na mesma proporção do uso indiscriminado dos antimicrobianos (COHEN; TARTASKY, 1997; SMITH, 2005).

Sem dúvida, o patógeno que lidera a lista dos microrganismos multirresistentes é o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, correspondente à sigla em inglês: MRSA (MULLIGAN et al., 1993). A pressão exercida pelo uso extensivo de um número restrito de opções terapêuticas incita previsões pessimistas

de que estamos criando verdadeiros monstros microscópicos resistentes a todo o nosso arsenal antimicrobiano (WILCOX, 2005). Segundo Foster (2004), foram realizados estudos, como alternativa, avaliando imunização ativa e passiva, assim como objetivando elucidar os mecanismos de aderência e colonização do *S. aureus*. Ou seja, buscam-se recursos terapêuticos capazes de combater estes microrganismos sem, contudo, provocar a seleção natural de cepas multirresistentes.

Os bastonetes Gram-negativos multirresistentes, produtores das denominadas β -lactamases de espectro estendido representam um desafio emergente ao tratamento das infecções provocado por elas. Dentre outras, destacam-se *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Entre os fungos, leveduras do gênero *Candida*, notadamente *Candida albicans* representam o maior problema terapêutico (SHAH et al., 2004; HAUSER; SRIRAM, 2005).

O problema da resistência microbiana é crescente e a perspectiva do 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 (NASCIMENTO et al., 2000).

Desde a década de 70, os pesquisadores de várias partes do mundo vêm reativando o interesse por pesquisas sobre produtos de origem natural e hoje existe uma procura cada vez maior por novas fontes de nutrientes e medicamentos (MELO JUNIOR et al., 2000).

Plantas apresentam uma habilidade quase ilimitada de sintetizar compostos aromáticos, como, por exemplo, os fenóis. Geralmente são derivadas do metabolismo secundário da planta, associados a mecanismos de defesa contra predação por: microrganismos, insetos e herbívoros. Substâncias químicas derivadas de plantas que têm ação antimicrobiana podem ser divididas em várias categorias (COWAN, 1999).

Rauha et al. (2000) obtiveram resultados efetivos tanto para bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos, quando avaliaram pelo método de difusão em Agar, alguns extratos ricos em flavonóides e outros compostos fenólicos.

Com o aumento de microrganismos resistentes às drogas antimicrobianas já conhecidas, vários extratos de plantas medicinais já foram testados, com a finalidade de se procurar novas drogas com atividades antimicrobianas reconhecidas. Os vegetais ricos em taninos, flavonóides e polifenóis estão entre os extratos e óleos essenciais mais testados para esta atividade.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a ação antimicrobiana do extrato fluído hidroalcoólico da casca da aroeira-do-sertão frente às cepas bacterianas gram positivas, gram negativas e fúngicas de interesse clínico.

3.2. Objetivos Específicos

- Identificar os microrganismos sensíveis e resistentes ao extrato fluído da aroeira-do-sertão;
- Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do extrato da aroeira-do-sertão frente aos microrganismos em estudo.

4. METODOLOGIA

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

O material vegetal foi obtido, no fragmento de mata de caatinga, situada no sítio Pedra da Bicha, no município de Amparo. A cidade está localizada na Microrregião do Cariri e na Mesorregião da Borborema do Estado da Paraíba. A vegetação nativa predominante é a caatinga hiperxerófila com trechos de floresta caducifólia.

As cascas foram obtidas através da raspagem do caule de plantas adultas da aroeira-do-sertão, devidamente selecionadas, baseando-se nas características botânicas e fitossanitárias, no período de 8:00 às 10:00h, no mês de abril do decorrente ano. Após a coleta, as cascas foram acondicionadas em saco de papel tipo Kraft.

Em seguida, as amostras foram coletadas em duplicatas, manualmente, sendo a primeira coleta uma representação da planta, a qual foi utilizada para identificação da referida espécie, foram coletadas amostras da planta em estado reprodutivo para a confecção de exsiccatas e que a mesma foi depositada no herbário Arruda Câmara da UEPB. A segunda coleta representa à aquisição do material a ser trabalhado no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM).

4.1.1. Secagem

As cascas embaladas em sacos de papel Kraft, foram submetidas ao processo de secagem, em estufa de ventilação forçada (FANEM[®], modelo 330), a temperatura de 40 °C, até estabilização da umidade.

4.1.2. Moagem

Após a secagem, as cascas foram trituradas em moinho do tipo Willey[®], e o composto resultante (material moído) foi peneirado em tamis de numeração 10

mesh. Em seguida, foi acondicionado em embalagem, hermeticamente fechada, e protegida do ar e da radiação solar.

4.2. Obtenção do extrato hidroalcoólico

Esta fase foi executada no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos/UEPB. O processo para obtenção do extrato hidroalcoólico, a partir da casca, seguiu as recomendações de Prista et al. (1981).

O extrato hidroalcoólico bruto, a partir do material moído, foi obtido por maceração. Inicialmente, o pó do respectivo material foi pesado para obtenção de 100g, utilizando-se balança de precisão. Em seguida, o pó foi colocado em um recipiente de vidro com capacidade igual a 1,0 litros e adicionou-se álcool a 70 °GL, sendo adicionado de 40 a 60% do peso do material, até submergi-lo, iniciando-se o processo de maceração. Durante o processo, o pó foi agitado, manualmente, com a finalidade de se obter o seu umedecimento uniforme.

O material vegetal permaneceu em repouso por 72 horas, agitado periodicamente e adicionando álcool a 70 °GL até submergir a solução. Ao final do 3º dia, o sobrenadante foi filtrado, utilizando-se uma malha de algodão de 3 a 5 cm de espessura, até exaurir o escoamento do líquido. Após esse procedimento, foram separados 90 mL do extrato, e o restante evaporado em banho Maria, em temperatura de aproximadamente 45° C, até completar 10 mL. Os 10 mL foram adicionado aos 90 mL, completando os 100 mL, obtendo-se um extrato líquido hidroalcoólico límpido de cor amarronzado.

No final, foi obtido 100 mL do extrato líquido hidroalcoólico bruto, o qual foi armazenado em recipiente de vidro, protegido da luz.

4.3. Cepas de microrganismos

Foram utilizadas cepas padronizadas American Type Culture Collection (ATCC) de bactérias *Staphylococcus aureus* (25923), *Escherichia coli* (25922), *Enterococcus faecalis* (7073), *Pseudomonas aeruginosa* (27853) e *Klebsiella*

pneumoniae (4352); fúngicas: *Candida albicans* (14053), *C. tropicalis* (16834), *C. parapsilosis* (23476), *C. krusei* (34135) e *C. guilliermondii* (6260).

Após a reativação (Figura 3A), as cepas em suspensão foram transferidas para tubos de ensaio estéril contendo caldo BHI (Brain and Heart Infusion) (Figura 3B), sendo incubadas as bactérias à temperatura de 37 °C, e as leveduras na temperatura de 24° C, por 24 horas, quando então foi confirmado o crescimento microbiano (DIAS, et al. 2006). Ao final deste período, os microrganismos foram transferidos, com o auxílio de uma alça bacteriológica, para placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Müeller-Hinton para bactérias e Ágar Sabouraud-Dextrose para leveduras (Figura 3C), em seguida, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica à temperatura de 37 °C/24h e as placas contendo as leveduras, a temperatura de 24° C/48h.

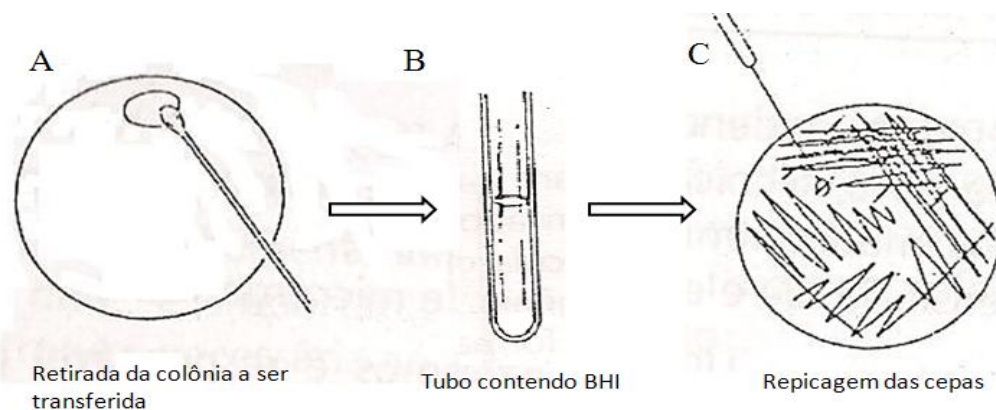


Figura 3A, B e C – Repicagem das cepas.
Fonte: Adaptado de Santos Filho (2003).

Posteriormente, as colônias isoladas, das referidas cepas, foram transferidas, com o auxílio de uma alça bacteriológica, para tubos de ensaio estéril, contendo solução salina a 0,9%, até obter uma turvação semelhante a 0,5 da Escala de McFarland, o qual foi confirmado em espectrofotômetro, usando o filtro de 625 nm e taxa de transmitância de 85%, com o objetivo de se obter cargas microbianas, 10^6 UFC (Unidade Formadora de colônia)/mL (CLSI, 2003).

4.4. Preparação das soluções do extrato hidroalcoólico

O procedimento para obtenção das diluições do extrato da casca da aroeira-do-sertão, seguiu o método adaptado ao de Stangarlin et al. (1999). Inicialmente, em um tubo de ensaio estéril, foram adicionados 5 mL do extrato líquido hidroalcoólico bruto (100%) da casca e 5 mL de álcool a 70 °GL, sendo agitado até a completa homogeneização, obtendo-se uma diluição com concentração final de 50% do extrato. A partir desta, utilizando o procedimento de diluição seriada, foram obtidas as demais diluições: 25, 12,5 e 6,25% (v/v).

4.5. Análise microbiológica

A avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto líquido da aroeira-do-sertão foi realizada no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos/UEPB.

Foi realizada seguindo as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute /National Committee for Clinical Laboratory Standards (CLSI/NCCLS, 2005).

No teste de sensibilidade microbiana, foi utilizado o teste de difusão em disco em meio sólido, seguindo os procedimentos de Bauer et al. (1966). Foram utilizadas placas de Petri contendo 20 mL do meio de cultura, sendo Ágar Müeller-Hinton para bactérias, e Ágar Sabouraud-Dextrose para leveduras, no qual foram inoculadas as respectivas cepas analisadas, pela técnica de espalhamento em superfície (BAUER et al., 1966), com auxílio de “swabs” estéreis mergulhados na suspensão contendo o inóculo. Após este procedimento, discos de papel de filtro estéril (CEFAR®, nº 3, ø 6,0mm), foram impregnados, separadamente, com 20 µL do extrato bruto hidroalcoólico concentrado.

Como controle negativo foi utilizado discos impregnados com álcool a 70 °GL. Como controle positivo foi utilizado discos antibacterianos, para *S. aureus* utilizou-se a cefalotina; *P. aeruginosa*, *E. coli* e *K. pneumoniae* a gentamicina; *E. faecalis* disco impregnado com 20 µL de gluconato de clorexidina 0,12%; para as cepas da espécie *Candida* utilizou-se Nistatina (100 UI). Sendo esse processo realizado em câmara de fluxo laminar. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Em seguida, as placas, foram incubadas a 37 °C/24h, para bactérias, e 27 °C/48h para leveduras. Após os referidos períodos, as zonas de inibição ao redor dos discos foram aferidas com o auxílio de um paquímetro digital.

4.6. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

Foi submetido à determinação da CIM o extrato que apresentou atividade antimicrobiana no ensaio anterior. Realizaram-se diluições sucessivas (v/v) no mesmo solvente utilizado no preparo do extrato, obtendo-se as concentrações 50%, 25%, 12,5% e 6.75%, com as quais foi realizado novo ensaio microbiológico.

4.7. Análise dos dados

Foi considerada como possuidora de atividade antimicrobiana, aquela concentração do extrato hidroalcoólico que quando aplicada sobre o meio de cultura contendo a suspensão do microrganismo, apresentou um halo de inibição de crescimento, caracterizado por uma zona de clareamento, igual ou superior a 8,0mm de diâmetro. Para a determinação da CIM foi considerada a menor concentração do extrato hidroalcoólico que apresentou halo de inibição com as mesmas dimensões, citada anteriormente, para a atividade antimicrobiana (LIMA et al., 2004).

O resultado final foi determinado pela média aritmética dos diâmetros dos halos de inibição (mm), obtidos nas triplicatas, de cada ensaio.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Leitura e mensuração dos resultados

Os resultados obtidos sobre a atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcoólico fluído das cascas da *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. seguem abaixo relatados na tabela 1.

Tabela 1. Valores das médias dos halos de inibição (mm) da atividade antimicrobiana do extrato das cascas da *Myracrodruon urundeuva* pelo método de difusão em Agar – técnica do disco.

MICROORGANISMO	Diâmetro dos halos de inibição (mm)						
	Concentração do extrato (µg/mL)						
	EB	1:2	1:4	1:8	1:16	C+	C-
<i>Staphylococcus aureus</i>	11,9	7,3	0,0	0,0	0,0	23,5	0,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11,2	10,7	8,9	7,6	7,0	28,9	0,0
<i>Enterococcus faecalis</i>	10,1	0,0	0,0	0,0	0,0	13,3	0,0
<i>Escherichia coli</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	28,8	0,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	25,8	0,0
<i>Candida albicans</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,0	0,0
<i>Candida tropicalis</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	16,0	0,0
<i>Candida parapsilosis</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	16,0	0,0
<i>Candida krusei</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,0	0,0
<i>Candida guilliermondii</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	12,0	0,0

EB = Extrato Bruto; C+ = Controle Positivo; C- = Controle Negativo.

Ao analisar o efeito antimicrobiano do extrato frente à *Staphylococcus aureus*, Tabela 1, verifica-se sensibilidade apenas no extrato bruto (100%). Resultados semelhantes foram obtidos com outras espécies vegetais, tais como,

Miconia rubiginosa (ALVES et al, 2008); *Psidium guajava*, *Bryophyllum calycinum* Salisb., *Eleutherine plicata* Herb, *Uncaria guianensis*, *Arrabidaea chica* e *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry (RIBEIRO, 2008); *Cereus jamacaru* DC (DAVET et al, 2009); *Richardia brasiliensis* Gomez (FIGUEIREDO et al, 2009); *Petiveria alliacea* L. (GUEDES et al, 2009) e *Azadiracta indica* e *Mimosa tenuiflora* (PEREIRA et al, 2009).

Quanto à ação do extrato frente à *Klebsiella pneumoniae*, observou-se a sensibilidade nas concentrações de 100, 50 e 25%, Tabela 1, com halos variando de 11,2 mm a 8,9 mm, mostrando uma diminuição proporcional do diâmetro dos halos à medida que a concentração do extrato foi diminuída. Existem poucos relatos a respeito da atividade antimicrobiana de extratos frente a *K. pneumoniae*, entretanto foram encontradas na literatura, referências à sensibilidade dessa bactéria a extratos como os de *Clematis cirrhosa*, *Micromeria nervosa* (Desf.) Benth., *Phagnalon rupestre*, *Salvia fruticosa* (ALI-SHTAYEH et al, 1998) e *Miconia albicans* e *Miconia rubiginosa* (CELLOTO et al, 2003).

K. pneumoniae mostrou-se resistente aos extratos de *Anacardium occidentale* L., *Pterodon emarginatus* Vogel, *Copaifera langsdorffii* Desf., *Anadenanthera colubrina* (Vell.), *Myroxylon peruiferum* L. F., *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, *Bixa orellana* L., *Eugenia uniflora* L. *Psidium guajava* L., *Mimosa tenuiflora* Willd. *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., *Ocotea odorifera* (Vell.), *Hymenaea courbaril* L., *Schinus terebinthifolia* Raddi, *Genipa americana* L., *Tabebuia avellaneda* Lor. ex. Griseb, *Casearia sylvestris* Sw. (GONÇALVES et al, 2005) e *Bowdichia virgilioides*, *Calophyllum brasiliense*, *Cariniana rubra*, *Lafoensia pacari*, *Simaba ferruginea* e *Stryphnodendron obovatum* (SILVA JÚNIOR et al, 2009).

Ao analisar a atividade inibitória do extrato frente à *Enterococcus faecalis*, Tabela 1, constatou-se que o referido microrganismo apresentou sensibilidade, apenas ao extrato concentrado. Por outro lado, os microrganismos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. guilliermondi*, não apresentaram sensibilidade ao extrato em nenhuma das concentrações testadas.

As anacardiáceas são reconhecidas pela ampla distribuição de fenóis (AGUILAR-ORTIGOZA, 2003). Queiroz et al. (2002) encontraram elevadas quantidades de compostos fenólicos na madeira de *M. urundeuva* (Engl.) Fr. All., cerca de 20,2% (equivalente em ácido gálico) dos extratos brutos metanólicos, e

Morais et al. (1998), por sua vez, registraram grande quantidade de extrativos em *M. urundeuva* Fr. All., sendo estes constituídos principalmente de proantocianidinas.

Estudos com os extratos dos brotos e renovos do caule de *M. urundeuva* permitiram comprovar a existência de chalconas diméricas antiinflamatórias (VIANA et al., 2003; BANDEIRA et al., 1994). A casca contém cerca, de 15% de tanino, o que lhe confere diversas propriedades farmacológicas (RIZZINI, 1971), como ação analgésica e antiinflamatória (VIANA et al., 1997). Foram isolados ainda compostos mais apolares como cicloeucalenol e cicloeucalenona a partir do extrato hexânico da entrecasca, que apresentam atividade antioxidante (DANTAS, 2003).

Os taninos são substâncias que apresentam várias atividades tidas como antimicrobianas; liga-se a proteínas, a adesinas, inibem enzimas, provocam privação do substrato microbiano, são capazes de formar complexos com a parede celular, provocam a ruptura da membrana plasmática e formam complexos com íons metálicos (COWAN, 1999).

Considerando a riqueza de constituintes presentes em plantas, a atividade antimicrobiana positiva do extrato da aroeira-do-sertão frente a amostras bacterianas, pode ser devido à presença de compostos como taninos (compostos polifenólicos) e alcalóides previamente encontrados na planta, uma vez que estes compostos têm comprovada ação antimicrobiana, e que compostos fenólicos possuem uma ação inespecífica sobre o microrganismo, rompendo a parede celular bacteriana, inibindo os sistemas enzimáticos para a formação da mesma (HASLAM, 1995; JORGE et al., 1996, AKINPELU, 2001).

A inibição ocasionada pelo extrato da *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. nas concentrações testadas, frente aos microorganismos, mostra a importância da fundamentação científica, ainda que este experimento, neste momento, não venha buscar correlações entre os resultados aqui obtidos e o uso *in vitro* para este fim, necessitando ainda estabelecer um parâmetro com o resultado do método de difusão em disco, onde se faz necessário a realização de novos estudos para elucidação dos questionamentos e das lacunas do conhecimento. Convém lembrar que o mecanismo de ação deste extrato pode ser influenciado pela presença de vários componentes ativos, que podem ou não apresentar atividades físico-químicas que aumentam ou reduzem a atividade antimicrobiana.

Auricchio e Bacchi (2003) relatam que quando comparamos estudos de plantas medicinais, é nítida a dificuldade de se avaliar os resultados, pois as

variáveis vão desde os aspectos climáticos influenciando na composição química, a coleta, a parte estudada da planta e a maneira de preparar o material, indo até ao experimento, propriamente dito.

Segundo o NCCLS (2003), os testes de sensibilidade a antimicrobianos são indicados para qualquer organismo que cause um processo infeccioso que exija uma terapia antimicrobiana quando for impossível prever a sensibilidade desse organismo, mesmo conhecendo a sua identificação. Estes testes são indicados quando se acredita que o microrganismo causador pertença a uma espécie capaz de produzir resistência aos agentes antimicrobianos normalmente usados.

Ainda segundo o NCCLS (2003), estes métodos podem ser usados para verificar a sensibilidade *in vitro* dos microrganismos frente aos agentes antimicrobianos, utilizando o método de disco difusão em Agar, para testar os diferentes patógenos.

Novaes et al. (2003) cita que os vegetais são excelente fonte de novas drogas, uma vez que a diversidade molecular dos produtos naturais são muito superiores às derivadas dos processos de síntese química, porém, recentemente, as plantas se tornaram objetos de pesquisas científicas no que diz respeito às suas propriedades, incluindo suas atividades antimicrobianas.

Sabemos que as plantas medicinais quase não são exploradas na produção de quimioterápicos. No Brasil, assim como em outros países latino-americanos, os fitoterápicos constituem-se em uma alternativa terapêutica econômica em relação aos medicamentos alopáticos industrializados, uma vez que, são utilizados diretamente no tratamento das doenças (CARVALHO et al., 2002).

Com isso, numerosas pesquisas científicas vêm comprovando cientificamente, a eficácia de algumas plantas, como alternativa terapêutica para certas patologias (BRAKUNI et al., 1974).

O fato do extrato hidroalcoólico fluído *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., ter apresentado efeito inibitório contra bactérias justifica os relatos de uso na medicina popular do nordeste brasileiro para o tratamento de problemas dermatológicos e ginecológicos (MATOS, 2000), sendo verificada experimentalmente sua atividade cicatrizante (VIANA et al., 1995).

Baseado nestes resultados, outros estudos químicos, farmacológicos e clínicos devem ser realizados com a *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. , pois esta planta demonstrou possuir considerável potencial terapêutico. Estes estudos podem

seguir dois caminhos distintos: procurar por um princípio ativo único ou continuar a investigação da atividade do extrato. No primeiro caso, algumas informações podem direcionar a procura pelo princípio ativo. Segundo Cowan (1999) o etanol é, genericamente, um bom veículo para a extração de taninos, polifenóis, poliacetilenos, flavonóis, terpenoides, esteróides, alcalóides e própolis.

Os terpenoides (óleos essenciais) não devem ser desprezados, pois segundo Burt e Reinders (2003) remontam da década de 20 do século passado os primeiros relatos de evidências científicas de atividades antimicrobiana dos óleos essenciais.

Devido ao efeito sinérgico demonstrado por Nascimento et al. (2000), é importante considerar a possibilidade de avaliar a associação de derivados de plantas com antibióticos especialmente contra microrganismos multirresistentes de origem hospitalar.

A partir de pesquisas como essas, novos agentes farmacológicos podem ser isolados e purificados a fim de produzir novos fármacos, propriedades existentes em novas plantas que poderiam curar várias enfermidades podem ser descobertas e plantas já utilizadas pela população podem ser estudadas para que sejam cultivadas e utilizadas de forma adequada (DANTAS, 2006; 2007). Essas pesquisas são imprescindíveis para a melhora da qualidade de vida da população, principalmente em um país como o Brasil que oferece uma imensa biodiversidade.

6. CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos neste trabalho, com base nas condições experimentais, pode-se concluir que o extrato hidroalcoólico fluído das cascas da *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. apresentou atividade antimicrobiana frente às *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterococcus faecalis*; demonstrando-se como uma eficaz alternativa terapêutica contra microrganismos patogênicos. Propõe-se novos estudos com abordagens químicas, farmacológicas e clínicas devem ser realizadas com *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., pois este vegetal comprovou considerável potencial terapêutico antimicrobiano.

REFERÊNCIAS

AGUILAR-ORTIGOZA, C. J.; SOSA, V.; AGUILARORTIGOZA, M. Toxic phenols in various Anacardiaceae species. **Economic Botany**, v.57, n. 3, p 354 - 364. 2003.

AKERELE, V. H.; SYNGE, H. **Conservation of medicinal plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 1991.

AKINPELU, D. A. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. **Fitoterapia** **72**: 286-287, 2001.

ALI-SHTAYEH, M. S. et al. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian área. **Journal of Ethnopharmacology** **60**: 265–271, 1998.

ALMEIDA, S. P. et al. **Cerrado**: espécies vegetais úteis. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. 188p.

ALVES, P.M. et al. Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação *in vitro*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 16(2): 192-196, 2006.

ANDRADE, M. W. et al. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). **Ciência e Agra tecnologia**, v.24, n.1, p.174-180, 2000.

ANDREMONT, A. The future control of bacterial resistance to antimicrobial agents. **American Journal of Infect Control**, v.29, p.256 – 258, 2001.

AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Rev Inst Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 62, n. 1, p. 55-61, 2003.

BANDEIRA, M. A. M., MATOS, F. J. A., BRAZ-FILHO, R. New chalconoid dimers from *Myracrodruon urundeuva*. **Nat Prod Lett** **4**: 113-120. 1994.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **AJCP**. v. 45, p. 493-96, 1966.

BRAKUNI, D. S. et al. **J. Nat. Prod.**, v. 37, p. 621-632, 1974.

BRANDÃO, M. Área Mineira do Polígono das Secas / Cobertura Vegetal. **Informe Agropecuário**, v.17, n.181, p.5-9, 1994.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. RDC nº 17 de 24 de fevereiro de 2000. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 25 fev. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 48 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 mar. 2004.

BURT, S. A.; REINDERS, R. D. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. **The Netherlands. Letters in Applied Microbiology**, Utrecht, v. 36, p. 162-167, 2003.

CAETANO, N. et al. Determinação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas de uso popular como antiinflamatório. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 12, supl., p. 132-135, 2002.

CARVALHO, A. A. T. et al. Atividade Antimicrobiano *in vitro* de extratos hidroalcoólicos de *Pisidium guajava* L sobre Bactérias Gram-Negativas. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 21, n. 4, p. 255-258, 2002.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Brasília: Embrapa/CNPQ, 640p. 1994.

CATÃO, R. M. R. et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” do extrato etanólico de *Punica granatum* Linn. (romã) sobre cepas isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. **Rev. Bras. Anal. Clin.**, 38(2): 111-114, 2006.

CELLOTO, A. C. et al. Evaluation of the *in vitro* antimicrobial activity of crude extracts of three *Miconia* species. **Brazilian journal of Microbiology**.34: 339-340, 2003.

CLSI. **Padronização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão**: norma aprovada – 8ª edição. M2-A8, v.23 n. 1, 2003.

CLSI/NCCLS. **Clinical and Laboratory Standards Institute/National Committee for Clinical Laboratory Standards**. Disponível em: <<http://www.contractlaboratory.com>>. Acesso em 10 de junho de 2010. 2005.

COHER, F. L.; TARTASKY, D. Microbial resistance to drugs therapy: a review. **American Journal of Infection Control**, New York, v. 25, n.1, p. 51-64, Feb. 1997.

COWAN, M. M. Plants products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, Oct. 1999.

CRISAN, I. et al. Natural própolis extract NIVCRISOL, in the treatment of acute and chronic rhinopharyngitis in children. **Rom J Virol**. v. 46. n. 3-4, p. 115-133, 1995.

DANTAS J. D. P. Contribuição científica à medicina tradicional dos Tapebas do Ceará: *Astronium urundeuva* (Allemão) Engl. – (aroeira-do-sertão). **Monografia de graduação do curso de química da Universidade Estadual do Ceará**. Fortaleza-Ce. 2003.

DANTAS, V. S. **Análise das garrafadas indicadas e comercializadas pelos raizeiros na cidade de Campina Grande - PB**. 2006. 59 f. Monografia

(Especialização em Educação Ambiental), Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2006.

DANTAS, I. C. Plantas medicinais: histórico e evolução. In: DANTAS, I. C. O **Raizeiro**. Campina Grande: EDUEPB, 2007.

DAVET, A. et al. Atividade antibacteriana de *Cereus jamacaru* DC, Cactaceae. Revista **Brasileira de Farmacognosia**. 19(2B): 561-564, 2009.

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.

DI STASI, L. C. et al.; **Fitoterapia**, v. 65, p. 529-540, 1994.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência – guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: Editora UNESP, 1996.

FIGUEIREDO, A.D.L.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana das partes aéreas (folhas e caules) e raízes de *Richardia brasiliensis* Gomez (Rubiaceae). **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, 2009;

FIGUEIRÔA, J. M.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botanica Brasilica**, v.18, n.3, p.573-580. 2004.

FLÓREZ, J. **Farmacología humana**. 3. Ed. Barcelona: Masson, S.A., 1997.

FOSTER, T. J. The *Staphylococcus aureus* “superbug”. **The Journal of clinical investigation**. Ann Arbor, v. 114, n. 12, p. 1693-1696, Dec. 2004.

GONÇALVES, A. L. et al. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.72, n.3, p.353-358, 2005.

GUEDES R.C.M. et al. Atividade Antimicrobiana de Extratos Brutos de *Petiveria alliacea* L. **Lat. Am. J. Pharm.** 28 (4): P. 520-4, 2009.

GURGEL-GARRIDO, L. M. A. et al. Efeitos do sombreamento no crescimento da aroeira - *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Revista do Instituto Florestal**, v.9, p.47-56, 1997.

HAMILTON, A. – **Medicinal plants and conservation: issues and approaches**. International Plants Conservation Unit, WWF-UK, 2003.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action. **J Nat Prod** 59: 205-215. 1995.

HAUSER, A. R.; SRIRAM, P. Severe *Pseudomonas aeruginosa* infections. Tackling the conundrum of drugs resistance. **Postgraduate Medicine**, Minneapolis, v. 117, n. 1, p. 41-48, Jan. 2005.

HOMAR, J.C. **Medicinas complementarias ou alternativas**. Um dilema para el sistema público. *Atención Primaria* 35 :389-391. 2005.

JORGE, L. I. F.; SILVA, G. A.; FERRO, V. O. Diagnose laboratorial dos frutos de *Anacardium occidentale* L. (caju). **Ver Bras Farmacogn** 5: 55-69. 1996.

LEHIR, A. **Farmácia galenica**: manuales da farmácia. São Paulo: Masson, 1985.

LINARES-RODRIGUES, J. F.; MARTINEZ-MENENDEZ, J. L. Antimicrobial resistance and bacterial virulence. **Enfermedades Infecciosas Y Microbiologia Clinica**, Madrid, v. 23, n. 2, p. 86-93, Feb. 2005.

LIMA, E. O. et al. *Schinus terebenthifolius* Raddi: avaliação do espectro de ação antimicrobiano de seu extrato aquoso. **Infarma**. v. 16, n. 1, p. 7-8, 2004.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. São Paulo: Plantarum, v.1. 368p. 1992.

MACIEL, M. A. M. et al. plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas**. 2. Ed. Fortaleza: EUFC, p.320, 1994.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Nordeste**. O Povo – Universidade aberta. Fascículo n. 3, Rio de Janeiro, 1998.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais** – Guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil, 2º edição: Imprensa universitária da UFC, Fortaleza. 2000.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas**: sistemas de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 4. Ed. Fortaleza: Editora UFC, p.83-85. 2002.

MEDEIROS, A. C. S. **Comportamento fisiológico, conservação de germoplasma a longo prazo e previsão de longevidade de sementes de aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl.)**. 127f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 1996.

MELO JUNIOR, E. J. M. et al. Estudo de plantas medicinais com atividade antimicrobiana sobre microorganismo presentes na alveolite. **Revista da ABO Nacional**, São Paulo, v. 8, n. 4, p. 220-226, 2000.

MENEZES, A. M. S. RAO, V. S. Anti-ulcerogenic activity of *Astronium urundeuva*. **Fitoterapia** 57: 55-57. 1986.

MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; QUEIROZ, C. R. A. A. Studies on polyphenols and lignin of *Astronium urundeuva* wood. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 10, n. 6, p. 447 - 452, 1998.

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.

MULLIGAN, M. E. et al. Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus*: a consensus review of the microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management. **The American Journal of Medicine**, New York, v. 94, p. 313-328, 1993.

MURRAY, P. R. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. D.C.: American Society of Microbiology Press, 1999.

NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C. Antibacterial activity of plant extract and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Braz J. Microbiol.** São Paulo, v. 31, no. 4, p. 247-256, out/dez 2000.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. **Performance Standart for Antimicrobial Disk Susceptibility Test**. Approved Standart – 8th ed. Document M2-A8, v. 23, n. 1, 2003.

NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O., et al.; **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. Ed. Porto Alegre: Ed. Universidade UFRGS; Ed. UFSC, cap. 1, p.11-24, 2000.

NOVAES, T. S. et al. Atividade antimicrobiana em alguns extratos de vegetais de semi-árido brasileiro. **Ver Bras Farmacog.**, São Paulo, v.13, supl. 2, p. 5-7, 2003.

OLIVEIRA, E. R. **Plantas medicinais Brasileiras**. São Paulo: Hemus editor Ltda, p. 196, 1993.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos da farmacobotânica**. 2. Ed. São Paulo: Atheneu, 178p. 1998.

PEREIRA, A.V. et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de jurema preta e neem sobre amostras de *Staphylococcus* sp. isoladas de mastite em búfalas. **Arq. Inst. Biol., São Paulo**, v.76, n.3, p.341-346, 2009.

PEREIRA, R. S. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Ver Saúde Pública**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 326-328, 2004.

PRISTA, L.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. U. I. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. 2 ed, v.II. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.1981.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 485 - 492, 2002.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; **Farmacologia**, 4a ed., Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, 2001.

RAUHA, J. P. et al. Antimicrobial effects of finnish plant extrats containing flavonoids and outhers phenolic compounds. **Int J Food Microb.** v. 56, p. 3-12, 2000.

RIBEIRO, A. Q.; LEITE, J. P. V.; DANTAS-BARROS, A. M. Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob a influência da legislação nacional. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 65-70, 2005.

RIBEIRO, C. M. **Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia**. Belém, 67p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Pará. 2008.

RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil**. Manual de dendrologia brasileira. São Paulo: Edgard Blücher, p.296, 1971.

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

SADER, H. S. et al.; Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian Hospitals: Summary os results from three years os the SENTRY antibacterial surveillance Program. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 5 n. 4, p. 200-214, 2001.

SANTIN, D. A.; LEITÃO FILHO, H. F. Restabelecimento e revisão taxonômica do gênero *Myracrodruon* Freire Allemão (*Anacardiaceae*). **Revista Brasileira de Botânica**, v.14, n.2, p.133-145, 1991.

SANTOS FILHO, L. **Manual de microbiologia clínica**. 3. ed. João Pessoa: Editora Universitária, 2003.

SANTOS, R. M. et al. Riqueza e similaridade florística de oito remanescentes florestais no Norte de Minas Gerais, Brasil. **Revista Árvore**, v.31, n.1, p.135-144, 2007.

SHAH, A. A. et al. Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of Gram-Negativew bacilli producing extended-spectrum β -lactamases. **Research in Microbiology**, Paris, v. 155, n. 6, p. 409-421, 2004

SILVA, J. G. da. et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. In: **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 17(4): 572-577, 2007.

SILVA JUNIOR, I. F.; et al. Antimicrobial screening of some medicinal plants from Mato Grosso Cerrado **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 19 (1B): 242-248, 2009.

SMITH, M. A. Antibiotic Resistance. **The Nursing clinics of North America**. Philadelphia, v. 40, n. 1, p. 63-75, Mar. 2005.

STANGARLIN, J. R. et al. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. v. 2, n. 1, p. 16-21, 1999.

TOLEDO, C. E. M. **Estudos anatômicos, químicos e biológicos de casca e extrato de Barbatimão**. Dissertação (Mestrado em Ciência Farmacêuticas) – UNESP, Araraquara-SP. 2002.

VARALDO, P. E. J. Antimicrob. **Chemother.** 50, 1. 2002.

VIANA, G. S. B. et al. **Aroeira do-sertão**: estudo botânico, farmacognóstico, químico e farmacológico. Fortaleza: UFC, 1995.

VIANA, G. S. B. et al . Analgesic and antiinflammatory effects of the tannin fraction from *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Phytother Res** 11 : 118-122, 1997.

VIANA, G. S. B.; BANDEIRA, M. A. M.; MATOS, F .J. A. Analgesic and anti-inflammatory effects of chalcones isolated from *Myracrodruon urundeuva* Allemao. **Phytomedicine**, v. 10, p.189 – 195, 2003.

WAGENLEHNER, F. M.; WEIDNER, W.; NABER, K. G. Emergence of antibiotic resistance among hospital-acquired urinary tract infections and pharmacokinetic/pharmacodynamic considerations. **The Journal of Hospital Infection**, London, v. 60, n. 3, p. 191-200, May 2005.

WANNMACHER, L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma guerra perdida? **Uso racional de medicamentos: temas selecionados**. Brasília, 2004.

WENIGER, B. Interest and limitation of a global ethnopharmacological survey. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 32, n. 1-3, p. 37-41, Apr. 1991.

WILCOX, M. H. Antibiotic prescribing as a risk factor for MRSA. **Hospital medicine**, London, v. 66, n. 3 p. 180-184, Mar. 2005.

WISE, R.; **J. Antimicrob. Chemother.** 2003, 51, Suppl. S2, ii5.

XAVIER, M. N. RAMOS, I. N. C. XAVIER FILHO, L. **A fitoterapia nas Afecções Bucais**. João Pessoa: Idéia, 1995.