



ARTIGO

**Atividade antibacteriana *In vitro* de *Croton campestris* A.,
Ocimum gratissimum L. e *Cordia verbenacea* DC.**

Edinardo F.F. Matias^{1,3}, Karla K. A. Santos¹, Thiago S. Almeida²,
José G. M. Costa^{2,3} e Henrique D.M. Coutinho¹

Recebido: 10 de novembro de 2009

Recebido após revisão: 31 de março de 2010

Aceito: 06 de maio de 2010

Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1428>

RESUMO: (Atividade antibacteriana *In vitro* de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC.) Neste estudo, os extratos metanólicos e hexânicos de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. foram avaliados para atividade antibacteriana contra linhagens de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. O crescimento de todas as bactérias testadas foi inibido pelos extratos. Os valores da CIM variaram de 128 a ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$. Com os resultados obtidos, os extratos metanólicos e hexânicos de *Croton campestris*, *Ocimum gratissimum* e *Cordia verbenacea* demonstraram ser uma promissora fonte de pesquisa na área de produtos naturais com ação antibacteriana.

Palavras-chave: extrato metanólico, extrato hexânico, atividade antibacteriana, CIM.

ABSTRACT: (*In vitro* antibacterial activity of *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. and *Cordia verbenacea* DC.) In this study, the hexane and methanol extracts of *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. and *Cordia verbenacea* DC. were evaluated for antibacterial activity against strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The growth of all bacteria tested was inhibited by the extracts. The MIC values ranged from 128 to ≥ 1024 mg / mL. With the results obtained, the hexane and methanol extracts of *Croton campestris*, *Ocimum gratissimum* and *Cordia verbenacea*. proved to be a promising source of research in natural products with antibacterial action.

Key words: methanol extract, hexane extract, antibacterial activity, MIC.

INTRODUÇÃO

Bactérias do gênero *Staphylococcus* são distribuídas na natureza, assim como na microbiota normal da pele e da mucosa dos animais e pássaros. Algumas espécies de *Staphylococcus* são frequentemente reconhecidas como agentes etiológicos de infecções oportunistas em muitos animais e humanos (Nostro *et al.* 2004, Coutinho *et al.* 2009). *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Staphylococcus haemolyticus* são as espécies mais importantes causadoras de infecções humanas e hospitalares. Além de causar diferentes tipos de intoxicações, *S. aureus* representa o agente etiológico mais comum em infecções como furúnculo, carbúnculo, abscesso, miocardite, endocardite, pneumonia, meningite e artrite bacteriana (Verhoeff *et al.* 1999).

Escherichia coli é uma das principais causas de doenças infecciosas humanas. É conhecida por produzir enterotoxinas cujas propriedades e participação em diarreias tem sido amplamente investigadas. A atividade das citotoxinas e seu papel na infecção humana já foram identificadas (Konowalchuk *et al.* 1977, 1978, Scotland *et al.* 1980), principalmente em infecções do trato urinário (Hughes *et al.* 1982).

Com relação às bactérias patogênicas, um problema crescente e preocupante é o aumento da resistência

bacteriana aos antibióticos (Nostro *et al.* 2004, Georgopapadakou 2005). Para pacientes, a resistência antimicrobiana aumenta a morbidade e mortalidade, enquanto que para as instituições de saúde significa aumento de custos (Dancer 2001, Coutinho *et al.* 2005). No que diz respeito à crescente importância dada às infecções bacterianas em comunidades hospitalares e o desenvolvimento progressivo da resistência antimicrobiana, um grande número de pesquisas vem sendo realizadas enfatizando as propriedades antibacterianas de produtos vegetais. (Hernández *et al.* 2003, Silva-Santos *et al.* 2004, Duarte *et al.* 2005, Gayoso *et al.* 2005, Michelin *et al.* 2005, Lima *et al.* 2006a, Lima *et al.* 2006b, Santos *et al.* 2007, Silva *et al.* 2007, Aguiar *et al.* 2008, Silva *et al.* 2008, Salvagnini *et al.* 2008, Simões *et al.* 2008).

A família Euforbiaceae possui cerca de 317 gêneros e 7500 espécies. O gênero *Croton*, que possui 700 espécies, é largamente distribuído em regiões quentes da Terra (Heluani *et al.* 2000). A espécie *Croton campestris* A., popularmente conhecida como velame-do-campo, é um arbusto originário do Brasil, ocorrendo principalmente nas regiões sudeste e nordeste (Corrêa 1975), possuindo largo emprego popular como poderoso depurativo, usado no combate à escrofulose, doenças venéreas, impingens, tumores, moléstias de pele, reumatismo, úlcera do útero, diarreia e artrite (Cruz 1982).

Ocimum gratissimum L. é um subarbusto aromático,

1. Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Regional do Cariri. Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta, CEP 63105-000, Crato, CE, Brasil.

2. Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais, Universidade Regional do Cariri, Crato, CE, Brasil.

3. Faculdade Leão Sampaio, Juazeiro do Norte, CE, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: effm_biologia@hotmail.com

Tabela 1. Origem das linhagens bacterianas e perfil de resistência a antibióticos.

Bactéria	Origem	Perfil de Resistência
<i>Escherichia coli</i> 27	Ferida cirúrgica	Ast, Ax, Amp, Ami, Amox, Ca, Cfc, Cf, Caz, Cip, Clo, Im, Can, Szt, Tet, Tob
<i>Escherichia coli</i> ATCC10536	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 358	Ferida cirúrgica	Oxa, Gen, Tob, Ami, Can, Neo, Para, But, Sis, Net
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	-	-

Ast – Aztreonam; Ax – Amoxicilina; Amp – Ampicilina; Ami – Amicacina; Amox – Amoxilina; Ca – Cefadroxil; Cfc – Cefaclor; Cf – Cefalotina; Caz – Ceftazidima; Cip – Ciprofloxacina; Clo – Cloranfenicol; Im – Imipenem; Can – Canamicina; Szt – Sulfametrim; Tet – Tetraciclina; Tob – Tobramicina; Oxa – Oxacilina; Gen – Gentamicina; Neo – Neomicina; Para – Paramomicina; But – Butirosina; Sis – Sisomicina; Net – Netilmicina; (-) Ausência de resistência ou resistência sem relevância.

originário da Ásia e África (Lorenzi & Matos 2002, Martins & Avarenga 2008). Conhecida como alfavaca e manjerição, suas folhas são usadas na medicina popular contra infecção bacteriana de organismos de alta patogenicidade. (Ueda-Nakamura *et al.* 2006, Matasyoh *et al.* 2007, Martins *et al.* 2008).

As espécies do gênero *Cordia* são encontradas em todas as zonas tropicais e subtropicais (Ficarra *et al.* 1995, Bayeux *et al.* 2002). *Cordia verbenacea* DC, ocorre no Brasil a partir da região Amazônica para o Rio Grande do Sul, preferencialmente a uma distância de 500 a 1000 metros da costa (Angely 1970, Bayeux *et al.* 2002). Conhecida popularmente como erva-baleeira, o extrato bruto da parte aérea da erva (folhas e caules) é amplamente utilizado pela população para tratar vários processos inflamatórios e é geralmente aplicado topicamente às áreas atingidas. Alguns pesquisadores têm sugerido que o flavonóide artemetina é o composto responsável pela atividade antiinflamatória desta espécie (Sertié *et al.* 1990, Bayeux *et al.* 2002).

Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de realizar a prospecção fitoquímica e avaliar o efeito antibacteriano dos extratos metanólico e hexânico de *C. campestris*, *O. gratissimum* e *C. verbenaceae* contra *E. coli* e *S. aureus* de linhagens padrões e multirresistentes de origem clínica.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Bacteriano

As linhagens bacterianas utilizadas foram: *E. coli* (EC-ATCC10536 e EC27) e *S. aureus* (SA-ATCC25923 e SA358) com perfil de resistência identificado na Tabela 1. Todas as linhagens foram mantidas em *Agar infusão de coração* (HIA, Difco Laboratories Ltda.). Antes dos ensaios, as linhagens foram cultivadas por 18h a 37°C em caldo *infusão de cérebro e coração* (BHI, Difco Laboratories Ltda.).

Material vegetal

Folhas de *Croton campestris*, *Ocimum gratissimum*

e *Cordia verbenacea* foram coletadas no município de Crato, Ceará, Brasil. O material vegetal foi identificado e uma exsicata foi depositada em herbário nas respectivas coleções (Tab. 2).

Preparação de extratos metanólicos e hexânicos de *Croton campestris*, *Ocimum gratissimum* e *Cordia verbenacea*.

Para preparação dos extratos, foram coletadas folhas que foram pesadas (Tab. 3), aumentada sua superfície de contato e em seguida acondicionada em recipiente com o solvente em volume suficiente para submergir todo material vegetal, permanecendo assim por 72h. Após esse período, o eluente foi filtrado em papel filtro para separação dos resíduos sólidos e concentrado em condensador rotativo a vácuo (model Q-344B – Quimis, Brazil) e banho maria (model Q-214M2 – Quimis, Brazil). Para os testes foram utilizadas soluções preparadas a partir dos extratos sob uma concentração de 10 mg/mL, dissolvidos em DMSO (dimetil sulfoxido), em seguida diluídos com água destilada para uma concentração de 1024 µg/mL.

Prospecção Fitoquímica

Os testes fitoquímicos para detectar a presença de heterosídeos, saponinas, taninos, flavonóides, esteróides, triterpenos, cumarinas, quinonas, ácidos orgânicos e de alcalóides foram realizados seguindo o método descrito por Matos (1997). Os testes se baseiam na observação visual da alteração de cor ou formação de precipitado após a adição de reagentes específicos.

Teste de atividade antibacteriana

A CIM (concentração inibitória mínima) foi determinada em ensaio de microdiluição em caldo (NCCLS 2003) utilizando-se um inóculo de 100 µL de cada linhagem, suspensas em caldo BHI que apresentava uma concentração de 10⁵ UFC/mL em placas de microtitulação com 96 poços, com diluições em série 1/2. Em cada poço foi adicionado 100µL de solução de cada extrato. As concentrações finais dos extratos variaram entre 512 - 8 µg/mL. Para os controles foram utilizados os antibióticos

Tabela 2. Famílias botânicas, espécies e número do título das plantas utilizadas neste estudo.

Família	Espécie	Número	Herbário
Euphorbiaceae	<i>Croton campestris</i>	#7095	UFRN
Boraginaceae	<i>Cordia verbenacea</i>	#044171	Prisco Bezerra-UFC
Lamiaceae	<i>Ocimum gratissimum</i>	#3978	Dárdano Andrade Lima-URCA

Tabela 3. Massa seca e rendimento dos extratos metanólicos e hexânicos brutos(g).

Espécie Biológica	Solvente	Folhas (Massa)	Extrato Bruto (Rendimento)
<i>Croton campestris</i>	Metanol (EMCC)	31,2	1,74
	Hexano (EHCC)	72,38	0,87
<i>Ocimum gratissimum</i>	Metanol (EMOG)	58,82	2,49
	Hexano (EHOG)	115,28	1,49
<i>Cordia verbenacea</i>	Metanol (EMCV)	31,4	1,74
	Hexano (EHCV)	107,47	1,72

EMCC – Extrato Metanólico de *Croton campestris*; EHCC – Extrato Hexânico de *Croton campestris*; EMOG – Extrato Metanólico de *Ocimum gratissimum*; EHOG – Extrato Hexânico de *Ocimum gratissimum*; EMCV – Extrato Metanólico de *Cordia verbenacea*; EHCV – Extrato Hexânico de *Cordia verbenacea*.

padrões amicacina, neomicina, gentamicina e canamicina cuja concentrações finais variaram entre 2500 µg/mL – 2,4 µg/mL. As CIMs foram registradas como as menores concentrações para a inibição do crescimento. O ensaio antibacteriano foi realizado em duplicata e os resultados foram expressos como média das repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos últimos anos tem havido um grande interesse científico em investigações químicas e farmacológicas sobre as propriedades biológicas de plantas medicinais (Saúde-Guimarães & Faria 2007, Barbosa-Filho *et al.* 2007, Biavatti *et al.* 2007, Oliveira *et al.* 2007, Barbosa-Filho *et al.* 2008, Coutinho *et al.* 2008). Sabe-se que as plantas medicinais têm sido fonte de muitos medicamentos aplicados em procedimentos clínicos. O uso de extratos como agentes antimicrobianos apresenta um baixo risco de aumento da resistência microbiana a sua ação porque são misturas complexas, fazendo com que haja maiores dificuldades para adaptabilidade microbiana (Daferera *et al.* 2003).

Os extratos brutos avaliados no presente trabalho, após todo o procedimento de preparação, apresentaram rendimentos que estão demonstrados na Tabela 3, onde foi possível observar um maior rendimento dos extratos metanólicos se comparados aos hexânicos. Para realização dos testes de microdiluição, os extratos foram diluídos em DMSO obtendo uma solução de concentração 10 mg/mL. Um ensaio piloto utilizando apenas o DMSO foi realizado, mas nenhuma atividade antibacteriana ou moduladora foi verificada, indicando não apresentar toxicidade.

Através da prospecção fitoquímica dos extratos, é possível identificar a presença de diversas classes de metabólitos secundários que apresentam uma ampla variedade de atividades biológicas como antimicrobiana (O'kenedy & Thomes 1997, Djipa *et al.* 2000, Esquenazi *et al.* 2002), antioxidante (Barreiros *et al.* 2006), antitumoral e anti-oftídica (Okuda *et al.* 1989). A Tabela 4 mostra a presença de diversos compostos potencialmente bioativos nos extratos avaliados, como taninos flobabênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononóis, leucoantocianidinas, catequinas, flavononas, alcalóides e terpenos.

Os extratos analisados apresentaram atividade antibacteriana considerável e previamente suposta, já que há relatos de inibição de organismos de elevada patogenicidade, como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Leishmania amazonensis*, pelo óleo essencial obtido das folhas dessas espécies vegetais (Ueda-Nakamura *et al.* 2006, Matasyoh *et al.* 2007, Martins & Avarenga 2008).

A Tabela 5 mostra o efeito antibacteriano dos extratos metanólicos e hexânicos testados contra *E. coli* e *S. aureus* referência e multirresistentes. Os resultados obtidos neste estudo mostraram que as melhores atividades antibacterianas foram observadas com EHCV (128 µg/mL para EC27 e 256 µg/mL para SA-ATCC 25923) e EHCC (256 µg/mL para EC27). Comparativamente, os extratos hexânicos apresentaram uma melhor atividade antibacteriana que os extratos metanólicos. Este resultado pode ser devido a presença de compostos com reconhecida atividade antibacteriana e com características apolares,

Tabela 4. Prospecção fitoquímica de extratos metanólicos e hexânicos de *C. campestris* A., *O. gratissimum* L. e *C. verbenacea* DC.

EXTRATOS	METABÓLITOS															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
EMCC	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
EHCC	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+
EMOG	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
EHOG	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
EMCV	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
EHCV	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+

1 – Fenóis; 2 – Taninos Pirogálicos; 3 – Taninos Flobabênicos; 4 – Antocianinas; 5 – Antocianidinas; 6 – Flavonas; 7 – Flavonóis; 8 – Xantonas; 9 – Chalconas; 10 – Auronas; 11 – Flavononóis; 12 – Leucoantocianidinas; 13 – Catequinas; 14 – Flavononas; 15 – Alcalóides; 16 – Terpenos; (+) presença; (-) ausência. EMCC – Extrato Metanólico de *Croton campestris*; EHCC – Extrato Hexânico de *Croton campestris*; EMOG – Extrato Metanólico de *Ocimum gratissimum*; EHOG – Extrato Hexânico de *Ocimum gratissimum*; EMCV – Extrato Metanólico de *Cordia verbenacea*; EHCV – Extrato Hexânico de *Cordia verbenacea*.

Tabela 5. Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos metanólicos e hexânicos de *C. campestris*, *O. gratissimum*, *C. verbenaceae* e de antimicrobianos padrões ($\mu\text{g/mL}$).

EXTRATOS E ANTIMICROBIANOS	EC27	EC-ATCC10536	SA358	SA-ATCC25923
EMCC	512	≥ 1024	≥ 1024	512
EHCC	256	≥ 1024	≥ 1024	512
EMOG	512	≥ 1024	≥ 1024	512
EHOG	512	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024
EMCV	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024
EHCv	128	≥ 1024	≥ 1024	256
AMICACINA	625	625	312	2500
NEOMICINA	39	625	312	1250
GENTAMICINA	156	625	78	157
CANAMICINA	78	1250	312	1250

EMCC – Extrato Metanólico de *Croton campestris*; EHCC – Extrato Hexânico de *Croton campestris*; EMOG – Extrato Metanólico de *Ocimum gratissimum*; EHOG – Extrato Hexânico de *Ocimum gratissimum*; EMCV – Extrato Metanólico de *Cordia verbenacea*; EHCv – Extrato Hexânico de *Cordia verbenacea*. EC – *Escherichia coli*, SA – *Staphylococcus aureus*.

como taninos, flavonóis e terpenos, extraídos principalmente por solventes apolares como o hexano.

Nos taninos as propriedades antimicrobianas parecem estar associadas com a hidrólise de uma ligação éster do ácido gálico, que serve como um mecanismo de defesa natural contra as infecções microbianas. A propriedade antimicrobiana do ácido tânico também pode ser utilizada no processamento de alimentos para aumentar a sua vida útil. O componente tanino da epicatequina e catequina (*Vaccinium vitisidaea* L.) demonstrou forte atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos. (Ho *et al.* 2001).

Os flavonóides são sintetizados por plantas em resposta à infecção microbiana (Dixon *et al.* 1983) e são eficazes contra uma ampla variedade de microrganismos. A atividade é provavelmente devido à sua capacidade de formar complexos com proteínas solúveis que se ligam à parede celular bacteriana. Alguns flavonóides lipofílicos podem também causar ruptura da membrana plasmática de microrganismos (Tsuchiya *et al.* 1996).

Terpenos ocorrem em forma de diterpenos, triterpenos, tetraterpenos bem como hemiterpenos e sesquiterpenos. Terpenos ou terpenóides são ativos contra bactérias (Ahmad *et al.* 1993). As sementes contêm componentes ativos, por exemplo, óleo volátil e timoquinone que apresentam proteção contra a nefrotoxicidade e hepatotoxicidade induzida por doenças ou produtos químicos (Lee *et al.* 2002, Bajt *et al.* 2003). O óleo de semente de *Nigella sativa* Linn. (Ranunculaceae) apresenta atividade anti-inflamatória, analgésica, anti-pirética, anti-microbiana e anti-neoplásica (Ali & Blunden 2003).

Os dados obtidos no presente trabalho são promissores e poderão incentivar futuras pesquisas sobre os aspectos fitoquímicos, toxicológicos e farmacológicos de produtos naturais isolados de *C. campestris*, *O. gratissimum* e *C. verbenaceae*, a fim de apoiar a sua possível utilização racional na terapêutica antimicrobiana e no combate à multirresistência bacteriana.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, J.S., COSTA, M.C.C.D., NASCIMENTO, S.C. & SENA, K.X.F.R. 2008. Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18: 436-440.

AHAMD, A.A., MAHMOUD, A.A., WILLIAMS, H.J., SCOTT, A.I., REIBESPIES, J.H. & MABRY, T.J. 1993. New sesquiterpene α -methylene lactones from the Egyptian plants *Jasione candicans*. *Journal of Natural Products*, 56: 1276-80.

ALI, B.H. & BLUNDEN, G. 2003. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research*, 17: 299-305.

ANGELY, J. 1970. *Flora Analítica e Fitogeográfica do Estado de São Paulo*. Vol. 4. São Paulo: Editora Phytos.

BAJT, M.L., KNIGHT, T.R., FARHOOD, A. & JAESCHKE, H. 2003. Scavenging peroxynitrite with glutathione promotes regeneration and enhances survival during acetaminophen-induced liver injury in mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 307: 67-73.

BARBOSA-FILHO, J.M., NASCIMENTO-JÚNIOR, F.A., TOMAZ, A.C.A., ATHAYDE-FILHO, P.F., SILVA, M.S. & CUNHA, E.V.L. 2007. Natural products with antileprotic activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17: 141-148.

BARBOSA-FILHO, J.M., ALENCAR, A.A., NUNES, X.P., TOMAZ, A.C.A., SENA-FILHO, J.G. & ATHAYDE-FILHO, P.F. 2008. Sources of α -, β -, γ -, δ - and ϵ -carotenes: A twentieth century review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18: 135-154.

BARREIROS, A.L.B.S. & DAVID, J.M. 2006. Estresse Oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e a defesa do organismo. *Química Nova*, 29: 113-123.

BAYEUX, M.C., FERNANDES, A.T., FOGLIO, M.A. & CARVALHO, J.E. 2002. Evaluation of the antiedematogenic activity of artemetin isolated from *Cordia curassavica* DC. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 35(10): 1229-1232.

BIAVATTI, M., MARENSI, V., LEITE, S.N. & REIS, A. 2007. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17: 640-653.

CORRÊA, M.P. 1975. *Dicionário das plantas úteis do Brasil*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura/Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal.

COUTINHO, H.D.M., CORDEIRO, L.N. & BRINGEL, K.P. 2005. Antibiotic resistance of pathogenic bacteria isolated from the population of Juazeiro do Norte - Ceará. *Revista Brasileira Ciências e Saúde*, 9: 127-138.

COUTINHO, H.D.M., COSTA, J.G.M., SIQUEIRA-JR, J.P. & LIMA, E.O. 2008. *In vitro* anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-MRSA strains. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 18(Supl.): 670-675.

COUTINHO, H.D.M., COSTA, J.G.M., SIQUEIRA-JR, J.P. & LIMA, E.O. 2009. Effect of *Momordica charantia* L. in the resistance to aminoglycosides in ethicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, doi:10.1016/j.cimid.2009.08.001 (in press).

CRUZ, G.L. 1982. *Dicionário das plantas úteis do Brasil*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Ed. EDEL.

DAFERERA, D.J., ZIOGAS, B.N. & POLISSIOU, M.G. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Protection*, 22: 39-44.

DANCER, S.J. 2001. The problem with cephalosporins. *J Antimicrob Chem*

- mother, 48: 463-478.
- DIXON, R.A., DEY, P.M. & LAMB, C.J. 1983. Phytoalexins: enzymology and molecular biology. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 55: 1-69.
- DJIPA, C.D., DELMEE, M. & QUENTIN-LECLERCQ, J. 2000. Antimicrobial Activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (Myrtaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 71: 307-313.
- DUARTE, M.C.T., FIGUEIRA, G.M., SARTORATTO, A., REHDER, V.L.G. & DELARMELINA, C. 2005. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 97: 305-311.
- ESQUENAZI, D. WIGG, M.D., MIRANDA, M.M.F.S., RODRIGUES, H.M., TOSTES, J.B.F., ROZENTAL, S., DA SILVA A.J. & ALVIANO, C.S. 2002. Antimicrobial and antiviral activities of polyphenolics from *Cocos nucifera* Linn. (Palmae) husk fiber extract. *Research in Microbiology*, 53: 647-652.
- FICARRA, R., FICARRA, P. & TOMMASNI, S. 1995. Leaf extracts of some *Cordia* species analgesic and anti-inflammatory activities as well as their chromatographic analysis. *Fármaco*, 50: 245-256.
- GAYOSO, C.W., LIMA, E.O., OLIVEIRA, V.T., PEREIRA, F.O., SOUZA, E.L., LIMA, I.O. & NAVARRO, D.F. 2005. Sensitivity of fungi isolated from onychomycosis to *Eugenia cariophyllata* essential oil and eugenol. *Fitoterapia*, 76: 247-249.
- GEORGOPAPADAKOU, N.H. 2005. Infectious disease 2001: drug resistance, new drugs. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, 5: 181-191.
- HELUANI, C.S., CATALAN, C.A.N., HERNÁNDEZ, L.R., TAPIA, E.B. & NATAN, P.J. 2000. Three new diterpenoids based on novel sarcopetalene skeleton from *Croton sarcopetalus*. *Journal of Natural Products*, 63: 222-225.
- HERNÁNDEZ, T., CANALES, M., AVILA, J.G., DURAN, A., CABALLERO, J., ROMO DE VIVAR, A. & LIRA R. 2003. Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine Zapolitán de las Salinas, Puebla (México). *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 181-188.
- HO, K.Y., TSAI, C.C., HUANG, J.S., CHEN, C.P., LIN, T.C. & LIN, C.C. 2001. Antimicrobial activity of tannin components from *Vaccinium vitis-idaea* L. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53: 187-91.
- HUGHES, C., MULLER, D., HACHER, J. & GOEBEL W. 1982. Genetics and pathogenic role of *Escherichia coli* haemolysin. *Toxicon*, 20: 247-252.
- KONOWALCHUK, J., SPEIRS, J.I. & STAVRIC, S. 1977. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 18: 775-779.
- KONOWALCHUK, J., DICKIE, N.S., STAVRIC, S. & SPEIRS, J.I. 1978. Properties of an *Escherichia coli* cytotoxin. *Infection and Immunity*, 20: 575-577.
- LEE, S.C., TSAI, C.C., CHEN, J.C., LIN, J.G., LIN, C.C., HU, M.L. & LU S. 2002. Effects of "Chinese yam" on hepato-nephrotoxicity of acetaminophen in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 23: 503-508.
- LIMA, I.O., OLIVEIRA, R.A.G., LIMA, E.O., FARIAS, N.M.P. & SOUZA, E.L. 2006a. Antifungal activity from essential oils on *Candida* species. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16: 197-201.
- LIMA, M.R.F., XIMENES, C.P.A., LUNA, J.S. & SANT'ANA, A.E.G. 2006b. The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16: 300-306.
- LORENZI, H. & MATOS, F.J.A. 2002. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 512 p.
- MARTINS, J.R. & ALVARENGA, A.A. 2008. Leaf Anatomy of alfavacraço plants cultivated under colored nets. *Ciência Rural*, 39(1): 82-87.
- MATASYOH, L.G., MATASYOH, J.C., WACHIRA, F.N., KINYUA, M.G., MUIGAI, A.W.T. & MUKIAMA, T.K. 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. growing in Eastern Kenya. *African Journal of Biotechnology*, 6: 760-765.
- MATOS, F.J.A. 1997. *Introdução à Fitoquímica Experimental*. 2ª Ed. – Fortaleza: Edições UFC.
- MICHELIN, D.C., MORESCHI, P.E., LIMA, A.C., NASCIMENTO, G.G.F., PAGANELLI, M.O. & CHAUD M.V. 2005. Evaluation of the antimicrobial activity of vegetal extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 15: 316-320.
- NCCLS (2003): Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA, pp.14-18.
- NOSTRO, A., BLANCO, A.R., CANNATELLI, M.A., ENEA, V., FLAMINI, G. & MORELLI, I. 2004. Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS Microbiology Letters*, 230: 191-195.
- O'KENNEDY, R. & THOMES, R.D. 1997. *Coumarins: biology applications and mode of action*. New York: John Wiley.
- OKUDA, T., YOSHIBA, T. & HATANO, T. 1989. Ellagitannins as active constituents of medicinal plants. *Planta Medica*, 55: 117-122.
- OLIVEIRA, F.Q., GOBIRA, B., GUIMARÃES, C., BATISTA, J., BARRETO, M. & SOUZA, M. 2007. Espécies vegetais indicadas na odontologia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17: 466-476.
- SALVAGNINI, L.E., OLIVEIRA, J.R.S., SANTOS, L.E., MOREIRA, R.R.D. & PIETRO, R.C.L.R. 2008. Avaliação da atividade antibacteriana de folhas de *Myrtus communis* L. (Myrtaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18: 241-244.
- SANTOS, S.C., FERREIRA, F.S., ROSSI-ALVA, J.C. & FERNANDEZ, L.G. 2007. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato de *Abarema cochliocarpos* (Gomes) Barneby & Grimes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17: 215-219.
- SAÚDE-GUIMARÃES, D.A. & FARIA, A.R. 2007. Substâncias da natureza com atividade anti-*Trypanosoma cruzi*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17: 455-465.
- SCOTLAND, S.M., DAY, N.P., WILLSHAW, G.A. & ROWE, B. 1980. Cytotoxic enteropathogenic *Escherichia coli*. *Lancet*, 315: 90.
- SERTIÉ, J.A.A., BASILE, A.C., PANIZZA S., MATIDA A.K. & ZELNIK R. 1990. Anti-inflammatory activity and sub-acute toxicity of artemetin. *Planta Medica*, 56: 36-40.
- SILVA, J.G., SOUZA, I.A., HIGINO, J.S., SIQUEIRA-JUNIOR, J.P., PEREIRA, J.V. & PEREIRA, M.S.V. 2007. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. Em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17: 572-577.
- SILVA, M.A.R., HIGINO, J.S., PEREIRA, J.V., SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P. & PEREIRA, M.S.V. 2008. Antibiotic activity of the extract of *Punica granatum* Linn. over bovine strains of *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18: 209-212.
- SILVA-SANTOS, A., ANTUNES, A.M.S., BIZZO, H.R., D'AVILA, C.A. & SOUZA-SANTOS, L.C. 2004. The application of essential oils and terpenes/terpenoids compounds in the fields of pharmaceutical and cosmetic through the knowledge registered in patents. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 14(Supl.1): 48-50.
- SIMÕES, C.C., ARAÚJO, D.B. & ARAÚJO, R.P.C. 2008. Estudo in vitro e ex vivo da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18: 84-89.
- TSUCHIYA, H., SATO, M., MIYAZAKI, T., FUJIWARA, S., TANIGAKI, S., OHYAMA, M., TANAKA, T. & JINUMA, M. 1996. Comparative study on the antibacterial Activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 50: 27-34.
- UEDA-NAKAMURA, T., MENDONÇA-FILHO, R.R., MORGADO-DÍAZ, J.A., KOREHISA, M.P., PRADO, D.F.B., CORTEZ, A.G.D., ALVIANO, D.S., ROSA, M.D.O.S., LOPES, A.H., ALVIANO, C.S. & NAKAMURA C.V. 2006. Antileishmanial activity of Eugenol-rich essential oil from *Ocimum gratissimum*. *Parasitology International*, 55(2): 99-105.
- VERHOEFF, J., BEAUJEAN, D., VLOK, H., BAARS, A., MEYLER, A. & WERKWN, V.D.C. 1999. A dutch approach to methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 18: 461-466.