

SCREENING DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia gracilis* SCHAUER SOBRE PATÓGENOS DE IMPORTÂNCIA NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Francisco Ângelo Gurgel da ROCHA (1); Leandro Ícaro Santos DANTAS (2); Fábio Gonçalves Macêdo de MEDEIROS (3); Luciana de Castro MEDEIROS (4)

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

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

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

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

RESUMO

A resistência bacteriana a antibióticos é um sério problema de saúde pública. Bactérias patogênicas como o *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Salmonella sp.*, e *Listeria monocytogenes* apresentam cepas resistentes, representando grave risco à saúde humana, sendo contaminantes de importância na indústria de alimentos. A prospecção de fitoquímicos antimicrobianos é apontada como uma possível solução para o problema. Dentre as espécies medicinais da caatinga produtoras de óleo essencial encontra-se a *Lippia gracilis* Schauer, cujo fitocomplexo contém compostos com atividade antibacteriana comprovada. Apesar de sua composição e atividades biológicas apontarem para aplicações práticas no controle de patógenos humanos, a ação do óleo essencial desta espécie sobre bactérias patogênicas ainda não foi devidamente avaliada. O presente trabalho objetivou realizar o *Screening* da atividade antibacteriana do óleo essencial de *L. gracilis* Schauer sobre patógenos de importância na indústria de alimentos. Utilizou-se uma abordagem experimental para todos os ensaios. Placas de Petri contendo Agar Mueller-Hinton foram semeadas em superfície com culturas padronizadas dos microrganismos mencionados. Foram perfurados poços de 10 mm de diâmetro nos quais se inoculou 100 µL do óleo essencial de *L. gracilis* não-diluído. As placas foram incubadas a 35±2°C/18 h. Os halos de inibição foram mensurados com paquímetro. Todos os microrganismo-alvo foram fortemente inibidos, sendo a maior inibição alcançada contra o *S. epidermis*.

Palavras-chave: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, alecrim-da-chapada, resistência

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a resistência microbiana frente aos antibacterianos tornou-se um sério risco a saúde coletiva, impondo barreiras ao controle das espécies de interesse médico-sanitário. Resultado do uso indiscriminado de drogas antimicrobianas, o fenômeno pode derivar diretamente de novas mutações, ou resultar de fenômenos de recombinação gênica entre bactérias. A resistência, portanto, é sempre relacionada a uma alteração no genótipo do organismo.

Bactérias patogênicas como a *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermes* destacam-se como contaminantes comuns na indústria de alimentos, sendo relevantes do ponto de vista médico-sanitário. Tais espécies apresentam cepas resistentes aos antibióticos usuais, tornando a sua presença em alimentos e superfícies de trabalho uma ameaça potencial à saúde coletiva.

Diante do aumento de casos de infecções de natureza bacteriana resistente, bem como a dificuldade no controle de seus agentes etiológicos em instalações da indústria alimentícia e em estabelecimentos comerciais, o uso de bioativos oriundos da flora nativa tem sido apontado como uma possível solução para o problema. Desse modo, esforços tem sido realizados visando à prospecção, o isolamento e a caracterização de princípios ativos úteis ao desenvolvimento de novos antimicrobianos.

A megadiversidade brasileira representa uma reserva potencial de novos fitoquímicos bioativos. Dentre as partes vegetais mais pesquisadas na busca de atividades biológicas, destacam-se os óleos essenciais, muitos dos quais têm demonstrado eficiente atividade antimicrobiana frente à patógenos de interesse médico-sanitário. Com base nesta afirmação, o óleo essencial de espécies da flora medicinal da caatinga apresenta-se como uma fonte promissora de novos antimicrobianos. Na medicina tradicional nordestina, destacam-se espécies pertencentes ao Gênero *Lippia* (Verbenaceae), dentre as quais, a *Lippia gracilis* Schauer, popularmente conhecida como alecrim da chapada, alecrim de serrote, alecrim pimenta, cidreira da serra ou alecrim de tabuleiro. O óleo essencial desta espécie contém proporções variáveis de fitoquímicos antimicrobianos de ação comprovada, o que potencialmente lhe confere atividade antibacteriana eficaz.

Embora sua composição e atividades biológicas indiquem diversas aplicações práticas no controle de patógenos humanos na indústria de alimentos e hospitais, a ação do óleo essencial de *Lippia gracilis* sobre bactérias clinicamente importantes ainda não foi completamente avaliada.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Nas últimas décadas, a resistência de certos microrganismos frente aos antibióticos constituiu um sério problema de saúde pública. Resultado direto do uso indiscriminado de tais quimioterápicos, tem dificultado o controle de diversas espécies de microrganismos de interesse médico-sanitário (BACCARO *et al.*, 2002; NAWAZ, 2002). Bactérias patogênicas como o *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermes*, *Salmonella sp.*, *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhi e *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhimurium apresentam cepas resistentes aos antibióticos usuais, tornando a sua presença em alimentos e superfícies de trabalho uma ameaça potencial à saúde humana (BACCARO *et al.*, 2002; GAYOSO *et al.*, 2007; RAPINI *et al.*, 2007; MANTILLA *et al.*, 2008; RIBEIRO *et al.*, 2006). Diante da resistência microbiana, a comunidade acadêmica considera a prospecção de bioativos da flora nativa como uma possível solução para o problema. Desse modo, têm sido realizados esforços visando à prospecção, o isolamento e a caracterização de princípios ativos para utilização direta em fitofármacos, ou para o uso como *templates* na síntese de novas drogas (FERREIRA, 1998).

A megadiversidade brasileira, é o resultado das adaptações dos organismos às amplas variações nas condições edafoclimáticas do país, representa uma reserva potencial de novos fitoquímicos bioativos. No fitocomplexo de nossas plantas medicinais estão presentes centenas de substâncias, fruto das interações entre o vegetal e os fatores bióticos e abióticos externos, tais como: a disponibilidade hídrica, condições climáticas, a presença de microbiota associada ao solo, água ou ao próprio vegetal, e as interações inter e intra-específicas com outras espécies presentes no ambiente (CAPASSO *et al.*, 2000; FUNARI & FERRO, 2005; VARNA *et al.*, 2008).

Dentre as frações vegetais usualmente pesquisadas em busca de atividades biológicas, destacam-se os óleos essenciais. Também denominados “óleos voláteis”, são compostos oleosos aromáticos, de composição complexa contendo dentre outros componentes, hidrocarbonetos terpênicos, ésteres, ácidos orgânicos,

aldeídos, cetonas e fenóis. As concentrações dos compostos são variáveis, em dependência de diversos fatores, sendo que a composição majoritária é representada por um composto farmacologicamente ativo (BURT, 2007). Os óleos essenciais extraídos a partir de várias espécies medicinais nativas têm demonstrado eficiente atividade antimicrobiana frente a patógenos de interesse médico-sanitário (VIOLANTE, 2008; RAMOS *et al.*, 2009; DUARTE *et al.*, 2007; LEMOS *et al.*, 2006).

Na medicina tradicional nordestina a *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae), popularmente conhecida como alecrim da chapada, alecrim de serrote, alecrim pimenta, cidreira da serra ou alecrim de tabuleiro, é utilizada no tratamento de infecções da boca, garganta e pele. A espécie é um arbusto ramificado de até 2 metros de altura, com caule quebradiço, folhas simples, pequenas, com pouco mais de 1 cm de comprimento, aromáticas e picantes, dotadas de nervação impressa claramente visível. Seu fruto é do tipo aquênio, muito pequeno, com sementes de germinação rara. O óleo essencial obtido a partir desta espécie contém concentrações variáveis de compostos orgânicos com atividade antimicrobiana, destacando-se o carvacrol, o timol, e o *p*-cimeno (ALBUQUERQUE *et al.*, 2006; BURT, 2007; CAVALCANTI, 2006; CENTRO NORDESTINO DE INFORMAÇÕES SOBRE PLANTAS, 2009; DUKE, 2009; NETO, 2007; NEVES *et al.*, 2008).

Com base nos dados expostos, o óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer, potencialmente apresenta eficaz atividade biológica no controle de patógenos. Contudo, não foram encontrados dados suficientes que atestem a eficácia de sua aplicação no controle dos microrganismos citados.

3 DESCRIÇÃO DA PROPOSTA

Apesar de sua composição e atividades biológicas apontarem para aplicações práticas no controle de patógenos humanos, a ação do óleo essencial de *Lippia gracilis* sobre bactérias clinicamente importantes ainda não foi devidamente avaliada. O presente trabalho objetivou realizar o *Screening* da atividade antibacteriana do óleo essencial de *L. gracilis* Schauer contra *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.* (cepas isoladas a partir de amostras comerciais de frango e peixe), *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhi, *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhimurium, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Staphylococcus epidermis* contaminantes comuns na indústria de alimentos e microrganismos relevantes à saúde pública.

4 METODOLOGIA

Conforme a classificação de Gil (1991) utilizou-se uma abordagem Experimental, na qual se avaliou a ação do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer sobre os microrganismos-alvo descritos.

4.1 Extração do Óleo Essencial de *Lippia gracilis* Schauer.

As amostras de óleo essencial testadas foram extraídas a partir de folhas frescas de *L. gracilis* Schauer, provenientes do Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN). A extração foi realizada por arraste por vapor, utilizando o sistema Clevenger, no Laboratório de Química de Produtos Naturais da mesma Universidade. O óleo essencial obtido foi estocado em frasco hermético, protegido da luz. O frasco com a amostra foi acondicionado em gelo e transportado para o Laboratório de Biotecnologia e Microbiologia de Alimentos do IFRN - Campus Currais Novos, onde permaneceu sob refrigeração à -10°C até o momento de sua utilização.

4.2 Microrganismos-Alvo

A atividade antibacteriana do óleo essencial foi testada sobre os microrganismos *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.* (cepas isoladas a partir de amostras comerciais de frango e peixe), *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhi, *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhimurium, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Staphylococcus epidermis*. As respectivas culturas puras foram obtidas a partir da bacterioteca do IFRN - Campus Currais Novos.

4.3 Padronização do Inóculo

Os microrganismos foram inoculados em tubos de ensaio contendo caldo BHI e incubados a 37 °C em condições aeróbias por 2 a 6 horas, após o que foram comparadas ao padrão 0,5 da escala de McFarland.

Quando necessário, a turbidez da cultura foi ajustada com uso de solução salina estéril, imediatamente antes da semeadura nas placas (ALVES *et al.*, 2008; NCCLS, 2003).

4.4 Inoculação das Placas de Teste

Foram utilizadas placas de Petri de 100 mm de diâmetro, contendo cerca de 60 mL de ágar Mueller-Hinton, previamente identificadas. As placas foram semeadas pelo método *spread plate*, com utilização de *swab* estéril. Para cada espécie de microrganismo foram inoculadas placas em duplicata, totalizando oito placas.

4.5 Teste de Difusão em Ágar e Leitura dos Resultados

Em cada uma das placas semeadas, foram perfurados 2 poços. A distância mínima entre estes foi de aproximadamente 20 mm, de modo a evitar a sobreposição dos resultados. Os poços foram identificados por caractere alfabético para o óleo essencial (“A” ou “B”) e “C+” para o controle. Para os primeiros, foram transferidos 100 µL do óleo essencial não-diluído de *L. gracilis*. Ao poço “C+” foi adicionado como controle positivo 100 µL de Cloranfenicol (4mg/mL). As placas foram incubadas a $37 \pm 2^\circ \text{C}$ /18h em condições aeróbias, após verificou-se a ocorrência de crescimento uniforme dos microrganismos e a presença de halo de inibição. Os diâmetros dos halos foram mensurados com uso de paquímetro, incluindo-se nestes o valor correspondente aos poços (NCCLS, 2003).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

No gráfico 1, estão representados os diâmetros dos halos encontrados no *Screening* do óleo essencial de *Lippia gracilis* não-diluído. No gráfico 2, estão expressos os percentuais de comparação dos halos obtidos a partir do O.E. de *Lippia gracilis* e da ação do Cloranfenicol.

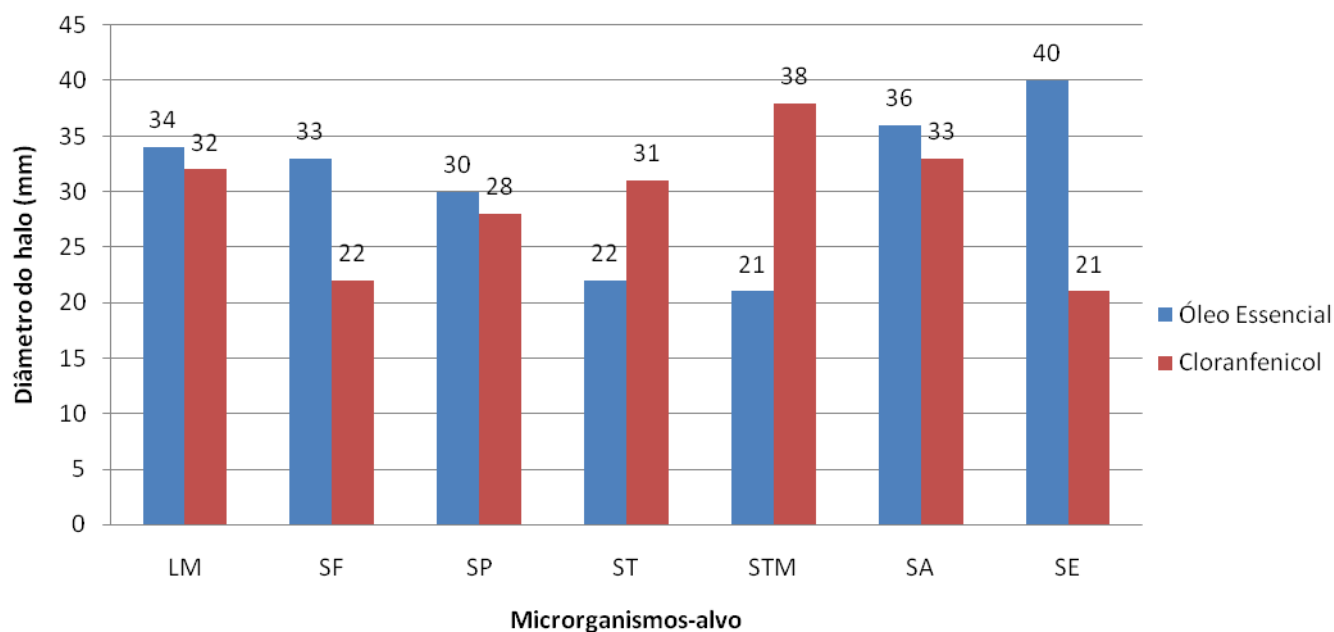


Figura 1 – Média dos halos de inibição (mm) obtidos a partir do óleo essencial de *Lippia gracilis* não-diluído/Cloranfenicol sobre os microrganismos-alvo. LM = *Listeria monocytogenes*; SF = cepa de *Salmonella sp.* isolada a partir de amostra comercial de frango; SP = cepa de *Salmonella sp.* isolada a partir de amostra comercial de peixe; ST = *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhi; STM = *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhimurium; SA = *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923); SE = *Staphylococcus epidermis*.

De acordo com os resultados expressos no gráfico 1, verifica-se que o óleo essencial de *Lippia gracilis* inibe o crescimento tanto de microrganismos Gram-positivos, quanto de Gram-negativos.

Os halos de inibição relacionados à *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e às cepas de *Salmonella sp.* isoladas a partir das amostras comerciais de frango e peixe, demonstram a grande potencial

antimicrobiano do O.E. de *L. gracilis* contra estes microrganismos (Gráfico 1). *L. monocytogenes* apresentou halos ligeiramente maiores (6,25%) que os gerados pelo controle positivo de cloranfenicol, o mesmo ocorrendo com o *S. aureus* (9%) e com a cepa de *Salmonella sp.* isolada a partir do peixe (7,14%). No caso da cepa de *Salmonella sp.* isolada a partir de frango, quando comparando frente ao halo do Cloranfenicol, o diâmetro médio do halo gerado é 50% maior (Gráfico 2).

Os halos observados em *S. typhi* e *S. typhimurium* foram menores que os gerados pelo controle positivo, atingindo, respectivamente 71% e 55% do diâmetro médio dos halos gerados pelo antibiótico em referência (Gráfico 2).

Dentre todos os microrganismos-alvo, *S. epidermis* demonstrou a maior sensibilidade ao óleo essencial, sendo o halo médio gerado, 91% maior, quando em comparação com o controle de Cloranfenicol (gráfico 1 e gráfico 2).

A ação inibitória observada pode ser explicada pela presença de compostos com ação antimicrobiana comprovada. *Screening* de amostras do óleo essencial de *L. gracilis* Schauer obtidas em Pernambuco/PE, estabeleceu para as mesmas concentrações entre 36,4 a 45% de carvacrol, 18,1-26,2% de p-cimeno e 37,4% de timol. Em tais concentrações, os compostos conferem ao óleo essencial de *L. gracilis* Schauer atividade antibacteriana eficaz (ALBUQUERQUE *et al.*, 2006; BURT, 2007; CAVALCANTI, 2006; NETO, 2007; NEVES *et al.*, 2008).

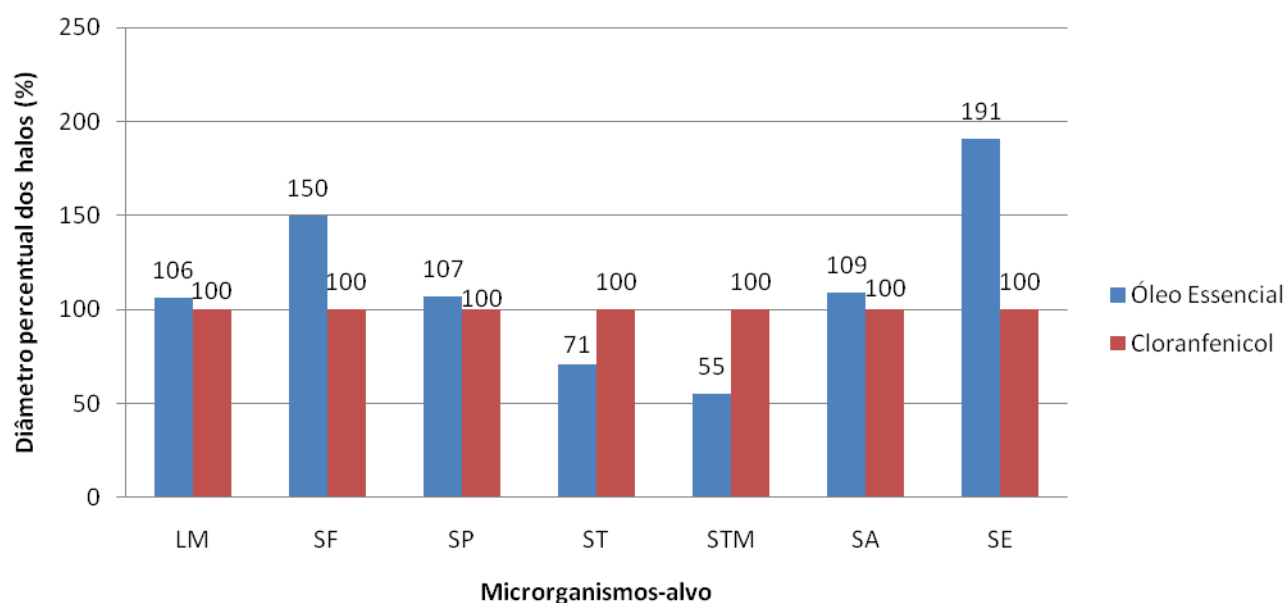


Figura 2 – Média da atividade antimicrobiana do Óleo Essencial de *L. gracilis* Schauer em comparação com a ação do Cloranfenicol, em percentual. Assume-se o halo obtido com o OE como correspondente a 100%. LM = *Listeria monocytogenes*; SF = cepa de *Salmonella sp.* isolada a partir de amostra comercial de frango; SP = cepa de *Salmonella sp.* isolada a partir de amostra comercial de peixe; ST = *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhi; STM = *Salmonella enteritidis* sorotipo Typhimurium; SA = *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923); SE = *Staphylococcus epidermis*.

Segundo Knowles *et al.* (2005), o mecanismo de ação envolvido na inibição dos microrganismos Gram-negativos pode envolver a capacidade que o timol e o carvacrol possuem de desintegrar membranas externas, liberando lipopolissacarídeos, o que gera alterações na permeabilidade da membrana plasmática, potencialmente resultando na morte da célula bacteriana (KNOWLES *et al.*, 2005). Já que se trata de microrganismos gram-negativos. No caso relatado por Burt (2007), existe interação entre o carvacrol e o timol, resultando em ação sinérgica entre eles potencializando a ação de ambos frente ao controle das células bacterianas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo essencial de *L. gracilis* apresentou atividade inibitória sobre todos os microrganismos testados, Gram-positivos e Gram-negativos, demonstrando amplo espectro de ação. A inibição foi mais forte sobre as espécies gram-positivas, mais consideravelmente sobre *S. epidermis*. Novos bioensaios estão sendo efetuados para se objetivar a determinação da Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer produzido a partir do cultivar da Universidade do Estado do Rio grande do Norte, UERN.

7 AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Laboratório de Química de Produtos Naturais e Cultura de Tecidos da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, nas pessoas das Professoras Doutoras Káthia Maria Barbosa e Silva e Cynthia Cavalcanti de Albuquerque, pela disponibilização das amostras de óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer testadas e pela contribuição para o projeto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, C. CAVALCANTI DE; CAMARA, T. R.; MARIANO, R. L. R.; WILLADINO, L.; MARCELINO JÚNIOR, C.; ULISSES, C.. **Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer**. *Brazilian archives of biology and technology: an international journal*. V.49, n. 4, p. 527-535, Jul. 2006.

ALVES, E. G.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; JACOMETTI, N. A.; FURTADO, C.; MARTINS, C. H. G.. **Estudo comparativo de técnicas de *screening* para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras**. *Quim. Nova*. V 31, n5, p1224-1229, 2008.

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

BURT, S. A.; **Antibacterial activity of essential oils: potential application in food**. Netherlands, Utrecht: Utrecht University, 2007. ISBN/EAN: 978-90-393-4661-7.

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

CAVALCANTI, V. O.; **Atividade micobacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer**. Dissertação. Recife, UFPE, 2006.

CENTRO NORDESTINO DE INFORMAÇÕES SOBRE PLANTAS. **Checklist de plantas do nordeste** In: Associação Plantas do Nordeste. Disponível em: <<http://www.cnip.org.br/bdnp/ficha.php?cookieBD=cnip7&taxon=5935>>. Acesso em 16 nov. 2009.

DUARTE, M. C.; LEME, E. E.; DELARMELINA C.; SOARES, A. A.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A. **Activity of essential oils from brazilian medicinal plants on *Escherichia coli***. *Journal of ethnopharmacology*, 111(2):197-20, mai 2007.

DUKE, J. A.; **Phytochemical and Ethnobotanical Databases**. Activities of a specific chemical query. 2009. Disponível em: <<http://www.ars-grin.gov/duke/chem-activities.html>>. Acesso em 16 nov. 2009.

FERREIRA, S. H.; (Sup.). **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**. Academia Brasileira de Ciências, 1998.

FUNARI, C.S., FERRO, V. O. **Uso ético da biodiversidade brasileira: uma necessidade e uma oportunidade.** Revista Brasileira de Farmacognosia. Journal of Pharmacology, vol. 15, supl. 2, p. 178-182, abr.-jun., 2005.

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

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

KNOWLES, J. R.; ROLLER, S.; MURRAY, D.B.; NAIDU, A. S.. **Antimicrobial action of carvacrol at different stages of dual-species biofilm development by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* Seroovar Typhimurium.** Applied and environmental microbiology. Fev. 2005, p 797-803.

LEMOS, T. L. G; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; CRAVEIRO, A. A.; CLARK, A. M.; MCCHESENEY, J. D.. **Antimicrobial activity of essential oils of brazilian medicinal plants.** *Phytotherapy research*. V.4 issue 2, p 82-84, 1990.

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

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

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

NETO, R. M.; ***Lippia Aff gracilis*, *Lippia gracilis* e L-Glutamina e suas ações antibacteriana, antioxidante e imunomoduladora em modelos de ratos diabéticos.** Dissertação. Fortaleza: UFC, 2007.

NEVES, L. A.; OLIVEIRA, J. C. S. ; CAMARA, C. A. G. ; SCHWARTZ, M. O. E. ***Chemical Composition of the Leaf Oils of Lippia gracilis Schauer from two Localities of Pernambuco.*** The Journal of essential oil research, 2008, v. 20, n.2, p. 157-160.

RAMOS, S. C. S.; OLIVEIRA, J. C. S.; CÂMARA, C. A. G. DA; CASTELAR, I.; CARVALHO, A. F. F. U.; LIMA-FILHO, J. V.. **Antibacterial and cytotoxic properties of some plant crude extracts used in Northeastern folk medicine.** Brazilian Journal of pharmacognosy, 19(2A): 376-381, Abr./Jun. 2009.

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

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

VARNA, A.; ABBOT, L.; WERNER, D.; HAMPP, R.. ***Plant surface microbiology.*** New York: Springer-Verlag, 2008. ISBN 978-3-540-74050-6.

VIOLANTE, I. M. P. **Avaliação do potencial antimicrobiano e citotóxico de espécies vegetais do cerrado da região centro-oeste**”. Dissertação. UFMS, 2008.