

KEILA DE CÁSSIA FERREIRA DE ALMEIDA SILVA

**AVALIAÇÃO DO USO DE PLANTAS MEDICINAIS COM  
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA COMO CONSERVANTES EM  
FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS**

**Monografia apresentada junto ao Curso de Pós-  
Graduação *Lato Sensu* do Instituto de Tecnologia de  
Fármacos – Farmanguinhos/ FIOCRUZ, como  
requisito final à obtenção do título de Especialista em  
Tecnologias Industriais Farmacêuticas.**

**Orientador: Prof. Olivar Silvestre Santos Filho, especialista em Tecnologia  
Industrial Farmacêutica.**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Olivar Silvestre dos Santos Filho, Especialista, FIOCRUZ

**Orientador**

---

Prof<sup>a</sup>. Maria das Dores Dutra Behrens, Doutora, FIOCRUZ

---

Prof<sup>a</sup>. Regina Coeli Nacif da Costa, Mestra, FIOCRUZ

## *Dedicatória*

*A Deus acima de tudo.*

*Aos meus pais: Josaphat e Zênia pelo exemplo de dedicação, amor e ensinamentos de toda uma vida.*

*Ao meu esposo Vander e minha filha Laura, pelo amor, incentivo e compreensão em todos os momentos.*

*Ao meu orientador Olivar pela orientação, paciência e apoio neste trabalho.*

## RESUMO

A atividade antimicrobiana de plantas medicinais se dá pela presença de substâncias oriundas do metabolismo secundário das mesmas, tais como: taninos, flavonóides, óleos essenciais e outros. Este estudo avaliou a atividade antimicrobiana de plantas medicinais, para uso como conservantes em formulações farmacêuticas, relatadas em 5 trabalhos publicados entre 2001 e 2010, e disponibilizados na Biblioteca Virtual de Saúde – BIREME, frente aos microorganismos: *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; utilizando o método de difusão em ágar ou turbidimétrico para avaliação desta atividade. De acordo com os resultados apresentados nos respectivos trabalhos, observou-se que as plantas *Rosmarinus officinalis* e *Melaleuca alternifolia* apresentaram atividade frente a quatro dos cinco microrganismos alvo, podendo ser utilizado como conservante natural em formulações farmacêuticas e/ou cosméticas.

Palavras chaves: Plantas Medicinais. Atividade Antimicrobiana. Conservantes.

## ABSTRACT

The antimicrobial activity of medicinal plants is achieved by the presence of substances originating from their secondary metabolism, such as tannins, flavonoids, essential oils and others. This study evaluated the antimicrobial activity of medicinal plants for use as preservatives in pharmaceuticals formulations, reported in five papers published between 2001 e 2010, and made available on the Virtual Health Library – BIREME front of microorganisms: *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; using the method of agar diffusion or turbidimetric to assess this activity. According to the results presented in their work, it was observed that the plants *Rosmarinus officinalis* and *Melaleuca alternifolia* showed activity against four of the five target microorganisms, can be used as a natural preservative in pharmaceuticals formulations and/or cosmetics.

Keywords: Medicinal Plants. Antimicrobial Activity. Preservatives.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Esquema simplificado do processo biossintético dos metabólitos secundários, destacando as principais classes de substâncias .....	11
Figura 2 - Exemplos de constituintes presentes em um óleo essencial .....	12
Figura 3 - Sítios de mecanismos de ação dos óleos essenciais frente à célula bacteriana .....	13
Figura 4 - Determinação da atividade antimicrobiana por difusão em ágar .....	14

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Conservantes sintéticos X Concentração de uso (%).....	17
Tabela 2 - Atividade antimicrobiana de plantas medicinais sobre cepas de microorganismos padrão.....	19
Tabela 3 - Atividade do óleo resina de copaíba ( <i>Copaifera multijuga</i> Hayne) frente à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027.....	27
Tabela 4 - Atividade do óleo de alecrim ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ), e óleo de melaleuca ( <i>Melaleuca alternifolia</i> ) frente aos microorganismos testados .....	28
Tabela 5 - Concentração inibitória mínima do extrato etanólico bruto das partes aéreas e raízes de <i>Richardia brasiliensis</i> Gomez frente aos microorganismos testados.....	28
Tabela 6 - Atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto das folhas de <i>D.</i> <i>elliptica</i> frente aos microorganismos testados.....	29
Tabela 7 - Atividade antifúngica de plantas medicinais do Cerrado Brasileiro frente aos microorganismos <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 e <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404.....	30
Tabela 8 - Atividade antimicrobiana das plantas X microorganismos padrão .....	31

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES

<i>American Type Culture Collection</i>	ATCC
Concentração Inibitória Mínima	CIM
<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>	CLSI
Dimetilsulfóxido	DMSO
Metodologia de Placa em ágar com Orifício	MAPO
<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>	NCCLS
Peso por volume	p/v
Unidade Formadora de Colônia	UFC
Volume por volume	v/v

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	9
2. Revisão da literatura .....	10
2.1. Atividade Antimicrobiana de Plantas .....	10
2.2. Métodos para Avaliação da Atividade Antimicrobiana .....	13
2.2.1. Difusão em Ágar .....	14
2.2.2. Turbidimétrico .....	15
2.3. Conservação do Produto .....	16
3. Objetivos .....	18
3.1. Objetivo Geral .....	18
3.2. Objetivo Específico.....	18
4. Metodologia .....	18
4.1. Trabalho A .....	20
4.1.1. Materiais .....	20
4.1.2. Método .....	20
4.2. Trabalho B .....	21
4.2.1. Materiais .....	21
4.2.2. Método.....	21
4.3. Trabalho C .....	22
4.3.1. Materiais .....	22
4.3.2. Método.....	22
4.4. Trabalho D .....	23
4.4.1. Materiais .....	23
4.4.2. Método .....	24
4.5. Trabalho E .....	25
4.5.1. Materiais .....	25
4.5.2. Método .....	26
5. Discussão dos Resultados .....	27
6. Conclusão .....	32
Referências .....	33
Glossário .....	35



## 1. INTRODUÇÃO

A atividade antimicrobiana das plantas medicinais se dá devido à presença de constituintes químicos, tais como óleos essenciais, taninos e flavonóides. Estas substâncias são oriundas do metabolismo secundário das plantas, as quais se utilizam destas para se defender de microorganismos patogênicos e de animais herbívoros (SAAD et al., 2009).

As propriedades bactericidas e bacteriostáticas, fungicidas e fungistáticas a partir de produtos vegetais têm sido motivo de estudo e pesquisa em todo mundo. Tais estudos avaliam a atividade dos produtos vegetais através de ensaios biológicos “in vitro” – testes de sensibilidade, utilizando microorganismos padrão geralmente da *American Type Culture Collection* – ATCC.

As formulações farmacêuticas não estéreis são passíveis de contaminação por microorganismos; seja pela presença destes (mesmo que dentro de um limite aceitável) nas matérias-primas, seja durante o processo produtivo, seja pelo armazenamento do produto acabado em locais inadequados, ou até mesmo pelo uso inadequado do produto. Devido a isto, sempre que permitido e viável são adicionadas substâncias com atividade antimicrobiana ou conservantes à formulação (AULTON, 2005).

Nos últimos 60 anos a ciência de conservação dos produtos farmacêuticos e cosméticos tem sido tratada de maneira científica. No início a conservação era obtida com agentes germicidas, apesar das conseqüências envolvendo riscos. Atualmente, existe grande preocupação não apenas do aspecto microbiológico, mas de potencial de irritação e toxicidade ao consumidor (PINTO, KANEKO & OHARA, 2003).

Este estudo consiste em uma pesquisa bibliográfica, através de trabalhos publicados nos últimos 20 anos referentes ao tema em questão,

tendo como fonte de pesquisa a Biblioteca Virtual de Saúde (BIREME), e como palavras chaves: plantas medicinais, atividade antimicrobiana e conservantes.

Após levantamento bibliográfico, foi realizada a seleção dos artigos e trabalhos e análise dos dados relatados, com a finalidade de reunir as evidências entre eles e propor o estudo da aplicabilidade das plantas medicinais com atividade antimicrobiana frente aos microorganismos: *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, como conservantes em formulações farmacêuticas.

O presente estudo torna-se relevante, pois apresenta a possibilidade do uso de plantas medicinais, que possuem atividade antimicrobiana, como conservantes em formulações farmacêuticas. O que proporciona o desenvolvimento de formulações 100% naturais, no caso de fitoterápicos ou fitocosméticos. Podendo estas serem mais efetivas frente aos microorganismos, devido ao aumento da resistência dos mesmos aos agentes antimicrobianos sintéticos comumente utilizados (MAHADY, 2005 apud JUNIOR et al., 2009).

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS**

Após descoberta da penicilina, houve um grande desenvolvimento na pesquisa de substâncias antimicrobianas nos vegetais. Os alcalóides, flavonóides, taninos, cumarinas, glicosídeos, terpenos, poliacetilenos e óleos essenciais são compostos sintetizados pelo metabolismo secundários das plantas (figura 1). Eles têm importância nos mecanismos de defesa das mesmas contra seus predadores, como fungos, bactérias, vírus, parasitas, insetos, moluscos e animais superiores. Essas substâncias também podem apresentar ação antimicrobiana contra bactérias gram-positivas, gram-negativas, leveduras e fungos filamentosos (CALIXTO, 2001 apud SANTOS, 2007).

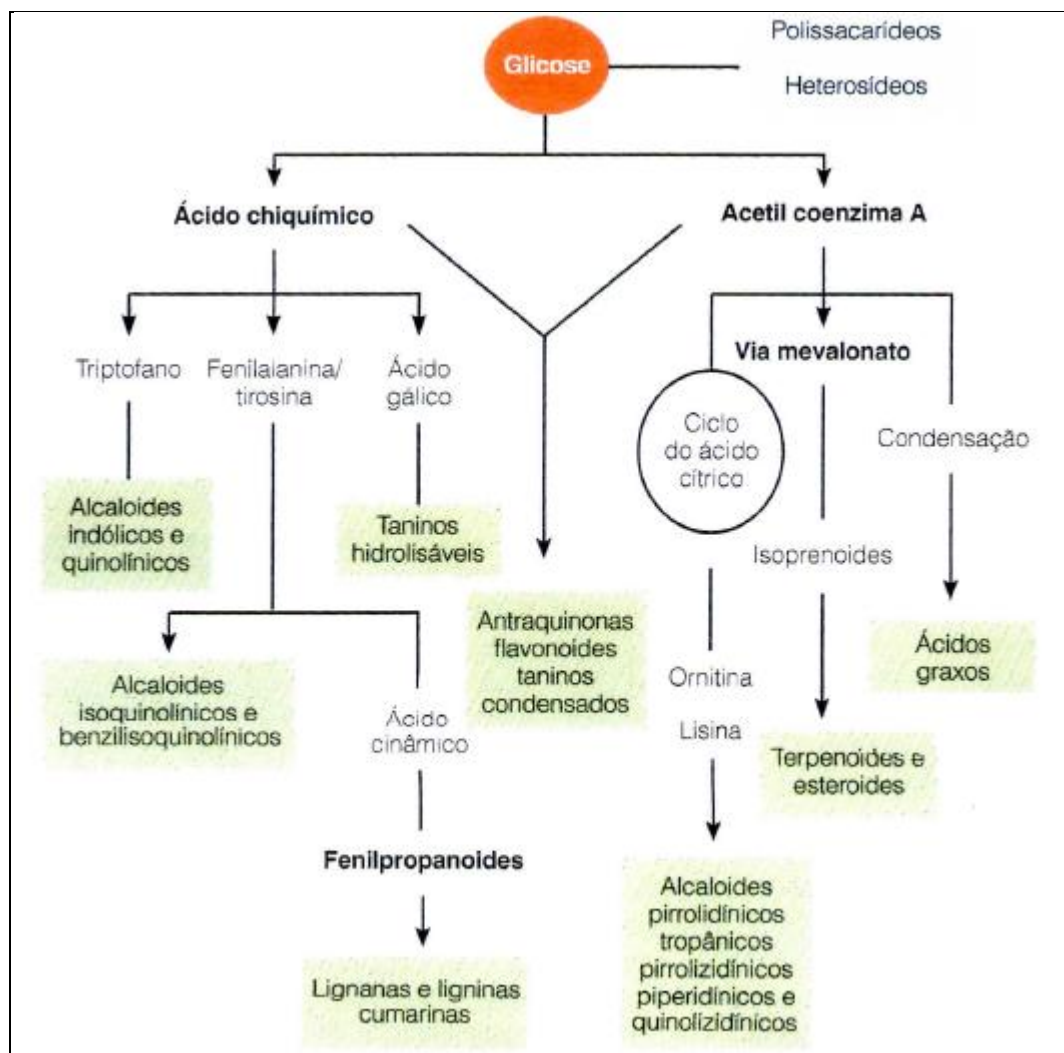


Figura 1 – Esquema simplificado do processo biossintético dos metabólitos secundários, destacando as principais classes de substâncias (SAAD et al., 2009).

Tais compostos químicos podem ser obtidos utilizando o método de extração, o qual se dá por difusão osmótica (diferença de concentração do conteúdo do interior das células da planta e líquido extrator), onde as substâncias contidas no interior das células vegetais são dissolvidas em líquido extrator, sendo este líquido posteriormente evaporado total ou parcialmente, e seu resíduo concentrado ajustado a padrões previamente estabelecidos dando origem aos extratos vegetais (SAAD et al., 2009).

Os flavonóides são compostos polifenólicos naturais largamente distribuídos nos vegetais superiores (angiospermas), principalmente. Muitos deles apresentam atividade biológica como, por exemplo, atividade antioxidante, antiinflamatória, antibacteriana, dentre outras (PERRUCHON, 2002 apud PACKER & LUZ, 2007).

Os óleos essenciais são geralmente isolados das partes aéreas das plantas por método de destilação, usualmente por arraste a vapor ou hidrodestilação e são constituídos (figura 2) por uma mistura de terpenos, em geral mono e sesquiterpenos, embora os diterpenos possam também estar presentes, e uma variedade de hidrocarbonetos alifáticos de baixo peso molecular, ácidos, alcoóis, aldeídos, éster acíclico, cumarinas (MANOU et al., 1998; DORMAN; DEANS, 2000 apud SANTOS, 2007).

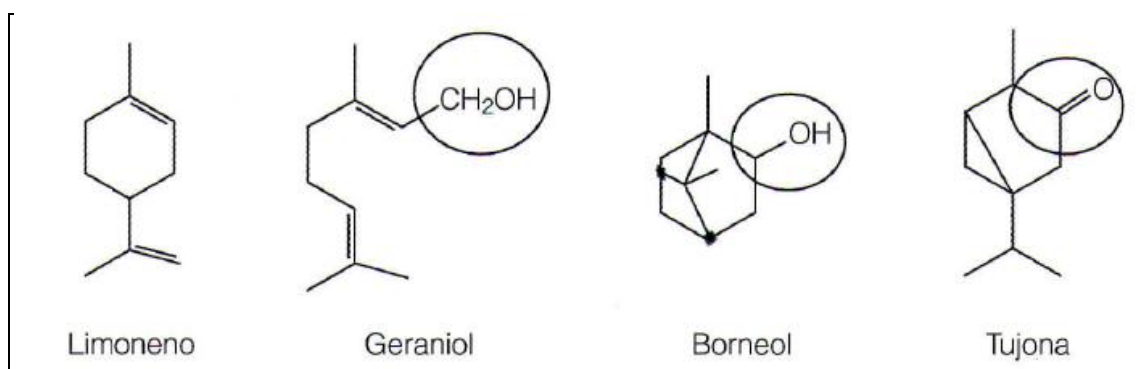


Figura 2 – Exemplos de constituintes presentes em um óleo essencial (SAAD et al., 2009).

O mecanismo de ação dos óleos essenciais para atividade antimicrobiana está relacionado com a perturbação da membrana citoplasmática e a interrupção da força motriz de prótons, do fluxo de elétrons, do transporte ativo e da coagulação dos conteúdos celulares (BURT, 2004 apud PINTO, 2009) (Figura 3).

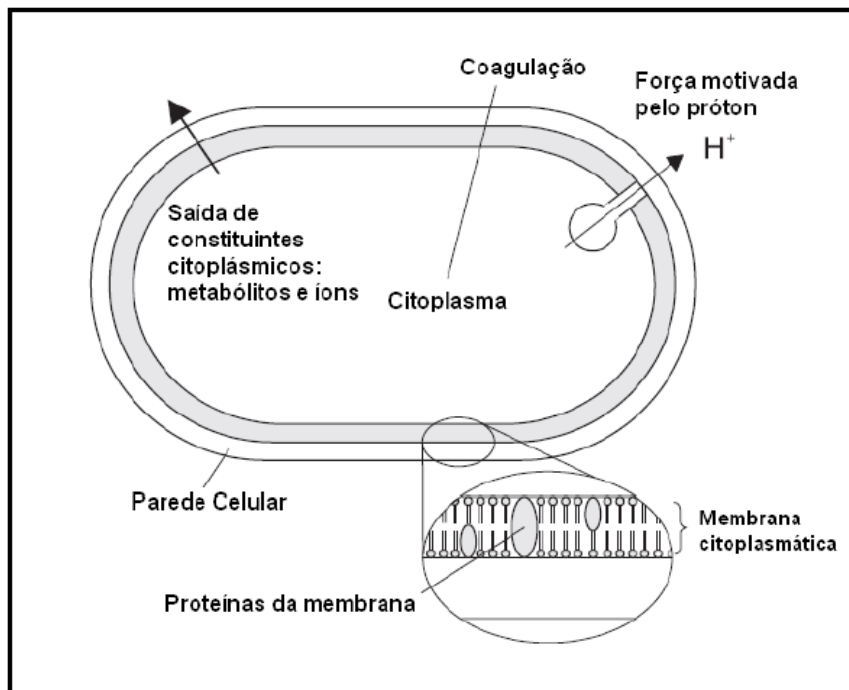


Figura 3 – Sítios de mecanismos de ação dos óleos essenciais frente à célula bacteriana (Adaptado de BURT, 2004 apud PINTO, 2009).

O efeito antimicrobiano está relacionado à lipossolubilidade da substância, quanto mais lipossolúvel, melhor a atividade antibacteriana, pois é mais fácil de atravessar a membrana celular dos microorganismos interferindo no metabolismo dos mesmos (AULTON, 2005).

## 2.2. MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana de extratos vegetais é avaliada através da determinação de uma pequena quantidade da substância necessária para inibir o crescimento do microorganismo teste; esse valor é conhecido como Concentração Inibitória Mínima - CIM (PINTO, KANEKO & OHARA, 2003).

Dentre os métodos para avaliação da atividade antimicrobiana em extratos e óleos vegetais, os mais utilizados são: difusão em ágar (ou placas) e turbidimétrico (ou em tubos).

### 2.2.1. Difusão em Ágar

O teste de difusão em ágar é um método físico, no qual um microorganismo é desafiado frente a uma substância antimicrobiana em um meio sólido. Este teste relaciona o tamanho da zona ou halo de inibição de crescimento com a dose da substância ensaiada (PINTO, KANEKO & OHARA, 2003) (Figura 4). Este método é mais comumente empregado e se limita a microorganismos de crescimento rápido, sendo eles aeróbios ou aeróbios facultativos (BARRY & THORNSBERRY, 1991 apud OSTROSKY et al., 2008).

A solução-teste é aplicada sobre a superfície do meio e as placas são incubadas. O crescimento do microorganismo ocorre respeitando, porém as áreas onde tenha ocorrido difusão da substância antimicrobiana, gerando contraste e resultando na chamada zona ou halo de inibição de crescimento (PINTO, KANEKO & OHARA, 2003).

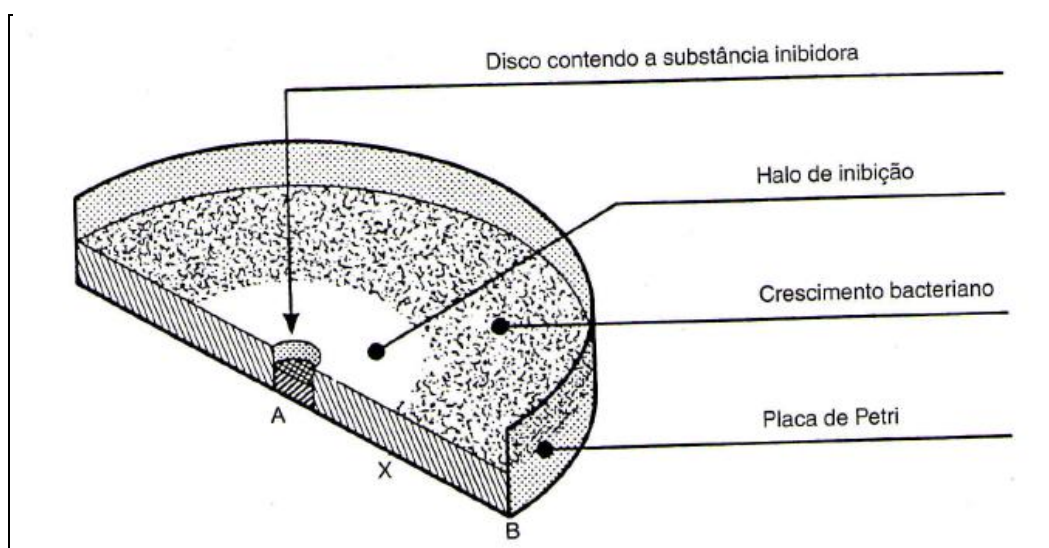


Figura 4 – Determinação da atividade antimicrobiana por difusão em ágar. A concentração da substância inibidora na região de A até X é elevada o suficiente para inibir o crescimento microbiano, ou seja, é uma concentração inibitória. Entre X e B, a concentração é subinibitória e permite o crescimento (AULTON, 2005).

A avaliação deste método é comparativa, e ocorre frente a um padrão antimicrobiano de referência (controle positivo), onde o halo de inibição é medido, partindo-se da circunferência do disco ou poço, até a margem onde há crescimento de microorganismos (BARRY & THORNSBERRY, 1991 apud OSTROSKY et al., 2008). Como controle negativo utiliza-se o solvente utilizado para dissolução dos extratos ou diluição dos óleos.

As técnicas de aplicação da substância antimicrobiana no método de difusão em ágar podem ser por meio de disco (papel de filtro intumescido com a substância teste), cilindros de aço inoxidável ou vidro e perfuração do ágar (PINTO, KANEKO & OHARA, 2003).

### 2.2.2. Turbidimétrico

O método turbidimétrico considera a relação entre a proporção de crescimento microbiano em meio líquido e a concentração da substância teste. A proporção é determinada pela densidade da turbidez provocada pelo crescimento microbiano (PINTO, KANEKO & OHARA, 2003).

A substância teste é adicionada à suspensão padronizada de microorganismos presente no caldo nutriente, e após incubação procede-se à leitura da resposta. Pode se dimensionar como resposta: peso seco, número total de microorganismos, número de microorganismos viáveis, nitrogênio total, pH, acidez titulável, liberação de CO<sub>2</sub> e consumo de oxigênio; portanto a leitura de turbidez da suspensão é o parâmetro mais utilizado (PINTO, KANEKO & OHARA, 2003).

Como controle positivo é utilizada a mesma técnica citada acima, porém no lugar da substância teste adiciona-se substância antimicrobiana padrão. E como controle negativo, substitui-se a substância teste pelo solvente utilizado para dissolução da amostra (substância teste).

O método turbidimétrico oferece vantagens como rapidez, fornecimento de resultados quantitativos e não é influenciado pela velocidade de crescimento dos microorganismos (SAHM & WASHINGTON II, 1991 apud OSTROSKY et al., 2008). Tendo como desvantagens a ausência de contaminação grosseira e coloração da amostra que interfira na leitura fotométrica, assim como a necessidade de equipamento para leitura da amostra (PINTO, KANEKO & OHARA, 2003).

Neste ensaio duas metodologias podem ser empregadas: a macrodiluição e a microdiluição. Sendo que a primeira envolve testes em tubos de ensaio, contendo volume de meio de cultura variando entre 1 e 10 mL; enquanto a segunda utiliza microplacas com 96 poços, contendo volume de meio de cultura entre 0,1 e 0,2 mL (OSTROSKY et al., 2008).

### 2.3. CONSERVAÇÃO DO PRODUTO

O objetivo primário do sistema conservante é que, quando incorporado à formulação, possa eliminar todos os microorganismos que alteram a estabilidade do produto ou que podem ocasionar infecções (PINTO, KANEKO & OHARA, 2003).

“Conservantes antimicrobianos são substâncias adicionadas em formas farmacêuticas não estéreis com a finalidade de protegê-las de quaisquer crescimentos microbianos. Para as formas farmacêuticas estéreis, acondicionadas em embalagens de doses múltiplas, os conservantes antimicrobianos são adicionados para inibir o crescimento de micro-organismos contaminantes durante o uso repetitivo das doses individuais.”  
(FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 5ª edição, v. I, p. 270, 2010)

Mesmo com requisitos rígidos de higiene durante a fabricação, controle de qualidade e uso de matérias-primas com número permissível de microorganismos, ainda há a possibilidade de contaminação secundária. Devido a isto sempre que viável é adicionada substância conservante à formulação.



Segundo Pinto, Kaneko & Ohara (2003), as características ideais de um conservante são:

- Largo espectro de atividade, em ampla faixa de pH, durante a meia vida do produto;
- Ser efetivo sobre cepas padrão específicas com número de ATCC, assim como organismos da flora natural;
- Distribuir-se de forma apropriada em sistemas emulsionados;
- Ser compatível com componentes da fórmula, sem interferir com a cor, sabor ou fragrância do produto ou da embalagem primária;
- Ser atóxico e não irritante;
- Ser de custo aceitável.

A tabela 1 cita alguns exemplos de conservantes sintéticos comumente utilizados em formulações farmacêuticas e cosméticas, e suas respectivas concentrações usualmente adotadas.

Tabela 1. Conservantes sintéticos x Concentração de uso

<b>Conservantes sintéticos</b>	<b>Concentração de uso (%)</b>
Álcool benzílico	1,0
Ácido benzóico (e sais)	0,1 a 0,5
Ácido sórbico	0,2
Cetrimida	0,01 a 0,1
Cloreto de benzalcônio	0,01 a 0,25
Clorhexidina	0,01 a 0,1
Fenoxietanol	1,0
Metilparabeno	0,2
Propil e butilparabeno	0,02

Fonte: Pinto, Kaneko & Ohara (2003)

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o uso de plantas medicinais, com atividade antimicrobiana, como conservantes em formulações farmacêuticas, com base na literatura.

#### 3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

Selecionar, descrever e comparar com base na literatura, dentre as plantas medicinais, as que apresentam atividade antimicrobiana frente aos seguintes microorganismos: *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; que segundo Farmacopéia Brasileira 5ª edição, são os microorganismos utilizados no teste de eficácia antimicrobiana. A edição anterior da Farmacopéia Brasileira (4ª edição), citava três destes microorganismos (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*) como microorganismos que devem estar ausentes em produtos farmacêuticos não estéreis e matérias-primas de uso direto em sua fabricação.

### 4. METODOLOGIA

A revisão bibliográfica de caráter exploratório levantou 44 trabalhos publicados entre 1991 e 2010, referentes à atividade antimicrobiana de plantas medicinais. Dentre estes foram selecionados aqueles que avaliavam atividade antimicrobiana sobre os microorganismos: *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; e que utilizavam os métodos farmacopeicos: difusão em ágar e/ou turbidimétrico. Foram

excluídos os que avaliavam atividade sobre outras cepas padrão que não as citadas anteriormente, e sobre isolados bacterianos de amostras clínicas, tendo em vista que o presente estudo se baseia em avaliar a atividade antimicrobiana de plantas medicinais para uso como conservante em formulações farmacêuticas e não como antibiótico. Também foram excluídos os trabalhos que utilizavam métodos para avaliar atividade antimicrobiana que não eram farmacopeicos; resultando em 5 trabalhos para avaliação.

Os trabalhos foram identificados por letras de A a E, para facilitar a descrição dos mesmos, conforme tabela 2.

Tabela 2. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais sobre cepas de microrganismos padrão.

Trabalho	Planta/nome popular	Parte da planta utilizada	Método utilizado	Microorganismos
A	<i>Copaifera multijuga</i> Hayne / copaíba	óleo-resina	Difusão em ágar	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027
B	<i>Rosmarinus officinalis</i> / alecrim <i>Melaleuca alternifolia</i> /melaleuca	óleo óleo	Difusão em ágar	<i>C. albicans</i> ATCC 10231 <i>E. coli</i> ATCC 8739 <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027 <i>S. aureus</i> ATCC 6538
C	<i>Richardia brasiliensis</i> Gomez/ poaia	partes aéreas (folhas e caules) e raízes	Diluição em ágar	<i>C. albicans</i> ATCC 10231 <i>E. coli</i> ATCC 8739 <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027
D	<i>Davilla elliptica</i> St. Hil. / sambaibinha	folhas	Diluição em ágar	<i>C. albicans</i> ATCC 10231 <i>E. coli</i> ATCC 8739 <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027
E	<i>Calophyllum brasiliense</i> / jacareúba <i>Bowdichia virgilioides</i> / sucupira preta ; <i>Simaba ferruginea</i> /calunga; <i>Croton urucurana</i> / sangra-d'água	entrecasca entrecasca rizoma latex	turbidimétrico	<i>C. albicans</i> ATCC 10231 <i>A. niger</i> ATCC 16404

## 4.1. TRABALHO A

### 4.1.1. Materiais

- Material vegetal: óleo-resina da *Copaifera multijuga* Hayne (copaíba), obtido na região de Aripuanã, no estado do Mato Grosso no ano de 2006.
- Meio de cultura: ágar Mueller-Hinton.
- Solvente para diluição do óleo-resina: Dimetilsulfóxido (DMSO).
- Discos de papel de filtro de 6 mm.
- Placas de Petri.
- Tubos de ensaio.
- Cepa padrão: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.
- Alça de Drigalski.
- Controle positivo: Clorafenicol 10 µg/disco.

### 4.1.2. Método

Segundo Mendonça & Onofre (2009), o óleo-resina da *Copaifera multijuga* Hayne foi diluído com dimetilsulfóxido (DMSO), em tubos de ensaio numerados de 1 a 10, de acordo com as diferentes concentrações. No tubo 1 foi colocado 1 ml do óleo puro e nos demais tubos (2 a 10) 0,5 ml de DMSO a 1 ml do tubo anterior. As concentrações obtidas foram: 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,78; 0,39 e 0,19%.

Após obtenção das concentrações descritas acima, discos de papel filtro de 6 mm foram impregnados por saturação em cada concentração.

A cultura microbiana de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, foi padronizada em  $10^8$  células/ml, estimadas por comparação ao tubo 0,5 da escala de MacFarland.

A suspensão bacteriana foi inoculada em placas contendo ágar Mueller-Hinton com auxílio de uma alça de Drigalski. Após este procedimento, os discos previamente preparados foram transferidos para os meios inoculados. As placas foram incubadas a  $35 \pm 1^\circ \text{C}$  durante 24 horas. Após esse período, as mesmas foram inspecionadas quanto à presença de halos de inibição (medidos em mm). Este teste foi realizado em triplicata, e utilizou Clorafenicol 10 µg/disco, como controle positivo.

## 4.2. TRABALHO B

### 4.2.1. Materiais

-Material vegetal: óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), e óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), obtidos de fornecedores de indústrias cosméticas não mencionadas, baseadas em histórico de produção e utilização dos mesmos.

-Meios de cultura: Agar Soja Trypticaseína, Agar Sabouraud Dextrosado 4%, Caldo Soja Trypticaseína, Caldo Sabouraud Dextrosado (DIFCO®).

-Cepas padrão: *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

- Placas de Petri.

-Tween 80.

### 4.2.2. Método

Segundo PACKER & LUZ (2007), foi empregada a metodologia de difusão em ágar com orifício – MAPO – (Fio Cruz/INCQS, 1992), a qual sofreu duas modificações. A primeira, onde se lacrou o orifício com o ágar utilizado, para que a amostra a ser aplicada não fluísse entre o meio e a placa, deixando

de se difundir pelo meio de cultura. A segunda, onde houve adição de Tween 80 às amostras (óleos), com a finalidade de diminuir a tensão superficial entre as mesmas e o meio de cultura, permitindo sua difusão pelo ágar.

### 4.3. TRABALHO C

#### 4.3.1. Materiais

-Material vegetal: extrato etanólico 95% (v/v) das partes aéreas (folhas e caules) e raízes da planta *Richardia brasiliensis* Gomez (poaia), na proporção de 1:5 (p/v).

-Meio de cultura: ágar Mueller Hinton.

-Rotaevaporador.

-Solvente: Etanol 95%.

-Solução salina estéril.

-Placas de Petri.

-Tubos de ensaio.

-Cepas Padrão: *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

-Inoculador de Steers.

#### 4.3.2. Método

De acordo com Figueiredo et. al (2009), o extrato etanólico foi obtido por maceração do material pulverizado, constituído das partes aéreas e raízes, em etanol 95% (v/v), na proporção de 1:5 (p/v) à temperatura ambiente, com agitação ocasional por 72h, seguido por filtração. O extrato obtido foi concentrado em rotaevaporador à temperatura de 40° C e o resíduo vegetal extraído por mais duas vezes de maneira análoga, obtendo assim o extrato etanólico bruto (FERRI, 1996 apud FIGUEIREDO et al., 2009).

Para avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto das partes aéreas e raízes de *Richardia brasiliensis* obtido anteriormente, foram utilizadas cepas de microorganismos padrão: *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, as quais foram repicadas em ágar Mueller-Hinton e incubadas a 37° C por 24h antes do experimento. O inóculo foi preparado, transferindo-se a cultura para tubos de ensaio contendo 2 ml de solução salina estéril até obtenção de uma turbidez equivalente à escala 0,5 de MacFarland.

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), foi realizada utilizando 476 mg do extrato etanólico bruto das partes aéreas e raízes, os quais foram pesados em tubos de ensaio esterilizados, solubilizados em 2 ml de etanol 95% e diluídos em série na proporção de 1:2. Em seguida, adicionou-se 19,0 ml de ágar Mueller Hinton liquefeito a 50° C aos tubos, homogeneizou-se e verteu-se rapidamente em placas de Petri esterilizadas. Após diluições foram obtidas concentrações dos extratos brutos que variavam de 11,9 mg/ml a 0,37 mg/ml. Nas mesmas condições, preparou-se um placa controle contendo 1 ml de etanol 95%. Todas as placas (testes e controle) foram incubadas em estufa à 37° C por 24h.

Os inóculos microbianos previamente padronizados, foram transferidos para o inoculador de Steers, (STEERS, 1959 apud FIGUEIREDO et al., 2009) e aplicados nas placas de ágar Mueller Hinton contendo as diferentes concentrações dos extratos. As mesmas foram incubadas a 37° C por 24h. Foi considerada CIM a menor concentração do extrato em que não houve crescimento microbiano. Os ensaios foram realizados em quadruplicatas.

## 4.4. TRABALHO D

### 4.4.1. Materiais:

- Material vegetal: extrato etanólico 95% das folhas da planta *Davilla elliptica* St. Hil. (sambaibinha), coletadas nos municípios de Alexânia, Goiás e em Goiânia, Goiás, respectivamente em abril e julho de 2003.
- Estufa com ventilação forçada.
- Moinho de facas.
- Meio de cultura: ágar Mueller Hinton.
- Rotaevaporador.
- Solvente: Etanol 95% PA.
- Solução salina estéril.
- Placas de Petri.
- Tubos de ensaio.
- Cepas Padrão: *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.
- Inoculador de Steers.

#### **4.4.2. Método**

Segundo Soares et al. (2009), para obtenção do extrato etanólico bruto, o material pulverizado ( folhas da planta dessecadas em estufa com ventilação forçada a 40° C e trituradas em moinho de facas) passou pelo processo de maceração a frio por no mínimo 3 dias, com agitação ocasional, utilizando como líquido extrator Etanol 95% PA, na proporção de 1:5 (p/v). Após maceração foi realizada filtração e o extrato obtido foi concentrado em rotaevaporador em temperatura inferior a 40° C.

Para avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto de *Davilla elliptica*, foram utilizados os seguintes microorganismos da ATCC: *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Estas cepas foram repicadas em ágar Mueller Hinton e incubadas a 37° C, por 24h. Para preparo e padronização do inóculo, as culturas de cada microorganismo foram transferidas para tubos de ensaio



contendo 2 ml de solução salina estéril, até obter-se turbidez equivalente à escala 0,5 de MacFarland.

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada pelo método de diluição em ágar de acordo com recomendação do *National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS* (2003).

Para determinação da CIM, foi pesado em tubo de ensaio o extrato etanólico bruto, e solubilizado em 2 ml de etanol 95%. Uma alíquota de 1 ml do primeiro tubo foi transferida para um segundo tubo contendo 1 ml de etanol 95% e assim sucessivamente para outros tubos, obtendo-se concentrações de 11,9 mg/ml a 0,023 mg/ml dos extratos das duas amostras de *D. elliptica*. Em seguida, foram adicionados aos tubos, 19 ml de ágar Mueller Hinton, sendo os mesmos submetidos à agitação em vortex e vertidos em placas de Petri. Após solidificação do meio, foram inoculados os microorganismos, utilizando o inoculador de Steers (STEERS, 1959 apud SOARES et al., 2009), o qual continha em cada poço, 100 µl da respectiva suspensão bacteriana. Foram utilizadas como controle, placas contendo etanol 95% e água destilada, preparadas nas mesmas condições. Todas as placas foram incubadas a 37° C por 24h, após o qual foi realizada leitura. Os ensaios foram realizados em quadruplicata. Foi considerada como CIM, a menor concentração capaz de inibir o crescimento das cepas dos microorganismos analisados.

## 4.5. TRABALHO E

### 4.5.1. Materiais:

-Material vegetal: extratos de hexano, diclorometano, acetato de etila, e etanol 75% das seguintes plantas: *Calophyllum brasiliense* (jacareúba) - entrecasca; *Bowdichia virgilioides* (sucupira preta) - entrecasca; *Simaba ferruginea* (calunga) – rizoma, na proporção de 3:1 (p/v); exceto a *Croton urucurana* (sangra-d'água), onde se usou o látex puro *in natura*. Todas as

plantas foram coletadas, durante fevereiro de 2004, na região do cerrado do estado do Mato Grosso.

-Meios de cultura: agar Sabouraud –Dextrose 4%(Oxoid®); agar Mueller Hinton (Micro Med®).

-Microplacas com 96 poços.

-Solventes: diclorometano, etanol 75% e DMSO (Sigma®).

-Cepas padrão: *Candida albicans* ATCC 10231 e *Aspergillus niger* ATCC 16404.

-Controle positivo: Anfotericina B (Sigma®).

#### 4.5.2. Método

Segundo Junior et al. (2009), cada parte da planta coletada foi seca a 40° C por 3 dias a peso constante e então triturada. O pó seco foi macerado sucessivamente com hexano, diclorometano, acetato de etila e etanol 75%, individualmente, ambos na proporção de 3:1 (p/v), a temperatura ambiente por 7 dias. Cada macerato foi separado por filtração e concentrado sob pressão reduzida. O látex obtido de *Croton urucurana*, foi testado puro *in natura*.

A atividade antimicrobiana foi avaliada utilizando cepas de microrganismos provenientes da American Type Culture Collection (ATCC): *Candida albicans* ATCC 10231 e *Aspergillus niger* ATCC 16404. As mesmas foram mantidas em caldos agar Sabouraud –dextrose 4% e repicadas a cada 15 dias a fim de prevenir transformações pleomórficas.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada utilizando microplacas de 96 poços de acordo com orientações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* - CLSI M27A2 e M38A (CLSI, 2002 e 2003). Soluções concentradas do extrato e frações em DMSO foram diluídas de forma a obter diluições duplas em série, as quais foram adicionadas a cada meio, resultando em concentrações que variavam entre 1000 a 8 µg/ml para os extratos e o látex. Foram adicionados 100 µl do inóculo (na concentração final de 10<sup>4</sup>

UFC/ml) ao meio Mueller-Hinton suplementado com 2% de glicose. Anfotericina B foi utilizado como controle positivo. As placas foram incubadas por 24, 48 ou 72 h a 30° C (de acordo com o controle de crescimento) até 15 dias. A CIM foi expressa como a menor concentração a qual inibiu crescimento a julgar da ausência de turbidez no tubo. Todos os testes antimicrobianos foram realizados em duplicata.

## 5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

No trabalho A, Mendonça & Onofre (2009) obtiveram os resultados com o óleo resina de *Copaifera multijuga* Hayne (copaíba), os quais estão descritos na tabela 3.

Tabela 3. Atividade do óleo resina de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne) frente à *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Concentração dos óleos (%)	Diâmetro do halo de inibição (mm)
100	13 ± 1,97
50	12 ± 2,06
25	10 ± 1,78
12,5	9 ± 1,65
6,25	R
3,12	R
1,56	R
0,78	R
0,39	R
0,19	R
CLO-10	19 ± 2,67

CLO-10 = clorafenicol 10 µg/disco; R = resistente.  
Fonte: Mendonça & Onofre (2009)

O óleo resina obtido da copaíba apresentou atividade antimicrobiana para *P. aeruginosa* ATCC 9027, variando de acordo com a concentração do mesmo. A CIM foi igual a 12,5%, apresentando um halo de inibição com 9 ±

1,65 mm de diâmetro. Enquanto o controle positivo (clorafenicol 10µg/disco) apresentou um diâmetro igual a  $19 \pm 2,67$  mm.

No trabalho B, os resultados encontrados por Packer & Luz (2007) estão relacionados na tabela 4.

Tabela 4. Atividade do óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), e óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) frente aos microorganismos testados.

Microorganismos testados	Óleo de Alecrim	Óleo de Melaleuca
<i>S. aureus</i> – ATCC 6538	+	++
<i>E. coli</i> – ATCC 8739	++	++
<i>P. aeruginosa</i> – ATCC 9027	+	+
<i>C. albicans</i> – ATCC 10231	+++	++

+ halo presente <10mm; ++ halo presente entre 10 e 60mm; +++ halo presente >60mm.

Fonte: (PACKER & LUZ, 2007).

O óleo de melaleuca apresentou melhor atividade para maioria das cepas testadas, apresentando halo de inibição entre 10 e 60 mm de diâmetro. Porém o óleo de alecrim provocou inibição total da *C. albicans*, com halo de inibição >60 mm.

Os resultados obtidos do trabalho C, relatados por Figueiredo et al. (2009) encontram-se na tabela 5.

Tabela 5. Concentração inibitória mínima do extrato etanólico bruto das partes aéreas e raízes de *Richardia brasiliensis* Gomez frente aos microorganismos testados.

Microorganismos testados	CIM (mg/ml)	
	Partes aéreas	Raiz
<i>E. coli</i> – ATCC 8739	0,74	0,74
<i>P. aeruginosa</i> – ATCC 9027	0,74	0,74
<i>C. albicans</i> – ATCC 10231	0,74	0,74

Fonte: Figueiredo et al. (2009)

Tanto as partes aéreas quanto a raiz da *Richardia brasiliensis*, apresentaram atividade antimicrobiana relevante para os microorganismos testados. Apresentando a mesma CIM para todos os microorganismos.

Os resultados obtidos por Soares et al. (2009), no trabalho D, encontram-se na tabela 6, onde é relatado a CIM obtida das amostras de *Davilla elliptica* oriunda de Alexânia e de Goiânia, frente aos microorganismos testados.

Tabela 6. Atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto das folhas de *D. elliptica* frente aos microorganismos testados.

Microorganismos testados	CIM (mg/ml)	
	Amostra I	Amostra II
<i>E. coli</i> – ATCC 8739	0,74	11,9
<i>P. aeruginosa</i> – ATCC 9027	0,37	0,18
<i>C. albicans</i> – ATCC 10231	0,37	<0,02

Amostra I: coletada do município de Alexânia - GO;

Amostra II: coletada do município de: Goiânia -GO.

Fonte: Soares et al. (2009)

Ambas as amostras I e II apresentaram atividade antimicrobiana frente aos microorganismos testados. Porém o extrato etanólico bruto das amostras coletadas em Alexânia foi mais ativo frente à bactéria *E. coli*, enquanto o extrato das amostras coletadas em Goiânia foi mais ativo para *P. aeruginosa* e a levedura *C. albicans*.

No trabalho E, Júnior et al. (2009), obtiveram os seguintes resultados com os diferentes extratos e látex, os quais estão descritos na tabela 7. Foram considerados ativos os materiais vegetais com CIM  $\leq 1000$   $\mu\text{g/ml}$ .

Tabela 7. Atividade antifúngica de plantas medicinais do Cerrado Brasileiro frente aos microrganismos *Candida albicans* ATCC 10231 e *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Espécie de Plantas	Tipo de Extrato	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
<i>Bowdichia virgilioides</i>	A	----	----
	B	----	----
	C	----	----
	D	----	1000
<i>Calophyllum brasiliensi</i>	A	----	----
	B	----	1000
	C	----	----
	D	----	----
<i>Simaba ferruginea</i>	A	----	----
	B	----	----
	C	----	----
	D	----	100
<i>Croton urucurana</i>	E	100	----
Anfotericina B	F	0,78	0,78

Os resultados estão apresentados como CIM em  $\mu\text{g/ml}$ . Tipos de extrato: A=hexano; B=diclorometano; C=acetato de etila; D=etanol 75%. E=latex; F=controle positivo. ----= $\text{CIM}>1000 \mu\text{g/ml}$ .

Fonte: Júnior et al. (2009)

Somente o látex de *Croton urucurana* apresentou atividade frente ao microorganismo *Candida albicans* ATCC 10231, com uma CIM equivalente a  $100 \mu\text{g/ml}$ . Enquanto os extratos etanólico e de diclorometano de *Bowdichia virgilioides* e *Calophyllum brasiliensi* respectivamente, apresentaram atividade frente ao *Aspergillus niger* ATCC 16404, com uma CIM de  $1000 \mu\text{g/ml}$  para ambos. Porém para este último microorganismo, sua melhor CIM ( $100 \mu\text{g/ml}$ ) foi obtida com o extrato etanólico de *Simaba ferruginea*.

Com relação às plantas estudadas nos trabalhos apresentados pode-se resumir na tabela 8 sua atividade antimicrobiana frente aos microrganismos em questão.

Tabela 8. Atividade antimicrobiana das plantas X microorganismos padrão

	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538
<i>Copaifera multijuga</i>	NA	NA	NA	+	NA
<i>Rosmarinus officinalis</i>	+	NA	+	+	+
<i>Melaleuca alternifolia</i>	+	NA	+	+	+
<i>Richardia brasiliensis</i>	+	NA	+	+	NA
<i>Davilla elliptica</i>	+	NA	+	+	NA
<i>Calophyllum brasiliense</i>	-	+	NA	NA	NA
<i>Bowdichia virgilioides</i>	-	+	NA	NA	NA
<i>Simaba ferruginea</i>	-	+	NA	NA	NA
<i>Croton urucurana</i>	+	-	NA	NA	NA

NA= não foi avaliado; += presença de atividade antimicrobiana; - =não apresentou atividade antimicrobiana satisfatória.

De acordo com os resultados apresentados na tabela 6, nenhuma das plantas teve sua atividade antimicrobiana avaliada frente a todos os microorganismos desejados de acordo com o objetivo específico deste estudo. Porém dentre as plantas avaliadas, as que obtiveram atividade antimicrobiana frente a um maior número de microorganismos foram: *Rosmarinus officinalis* e *Melaleuca alternifolia*, as quais apresentaram atividade frente a quase todos os microorganismos em questão, exceto ao *Aspergillus niger* ATCC 16404, o qual não foi avaliado. No entanto este último foi alvo do estudo das plantas: *Calophyllum brasiliense*, *Bowdichia virgilioides* e *Simaba ferruginea* as quais apresentaram atividade antimicrobiana relevante frente ao mesmo.

Sendo assim pode-se propor o estudo da atividade antimicrobiana das plantas medicinais *Rosmarinus officinalis* e *Melaleuca alternifolia*, frente ao *Aspergillus niger* ATCC 16404; bem como o estudo da associação destas com a planta *Simaba ferruginea*, a qual apresentou melhor atividade frente ao *Aspergillus niger* ATCC 16404, obtendo-se então um composto com atividade frente a todos os microorganismos desejados, e quiçá um potente conservante natural.

## 6. CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que os óleos puros obtidos das plantas *Rosmarinus officinalis* e *Melaleuca alternifolia* apresentaram atividade antimicrobiana para os microorganismos: *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. E que o extrato etanólico de *Simaba ferruginea* apresentou melhor atividade frente ao *Aspergillus niger* ATCC 16404, com um CIM de 100 µg/ml.

Por sua atividade frente a um número maior de microorganismos desejados, os óleos obtidos das plantas *Rosmarinus officinalis* e *Melaleuca alternifolia* têm grandes possibilidades de serem utilizados como conservantes naturais em formulações farmacêuticas e/ou cosméticas.



## REFERÊNCIAS

AULTON, Michael E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2005.

CLSI- Clinical and Laboratory Standards Institute, formerly NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), Method M27-A2 – **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts**. 2<sup>ed</sup> ed. Wayne Ed.; vol. 22 (15), p.1-29, 2002.

\_\_\_\_\_. Method M-38A – **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi**. 2<sup>ed</sup> ed. Wayne Ed.; vol. 22 (16), p.1-27, 2002.

FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5ª edição, v. 1. Brasília. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010, p.270.

FIGUEIREDO, A.D.L.; BUSTAMANTE, K.G.L.; SOARES, M.L.; PIMENTA, F.C.; BARA, M.T.F.; FIUZA, T.S.; TRESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R. Avaliação da atividade antimicrobiana das partes aéreas (folhas e caules) e raízes de *Richardia brasiliensis* Gomez (Rubiaceae). **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 30, n.2, p. 65-68, Set. 2009.

FIOCRUZ- FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, INCQS – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. **Manual de Saneantes**. Rio de Janeiro, 1992.

JUNIOR, Iberê F. Silva; FILHO, Valdir Cechinel; ZACCHINO, Susana A.; LIMA, Joaquim Corsino da S.; MARTINS, Domingos Tabajara de O. Antimicrobial screening of some medicinal plants from Mato Grosso Cerrado. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n.1B, p. 242-248, Jan./Mar. 2009.

MENDONCA, Davidy Eduardo; ONOFRE, Sideney Becker. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaiba - *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2B, p.577-581, Abr./Jun. 2009 .

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) . **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically**; approved standard-Sixty Edition. NCCLS document M7-A6. Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA: NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400; p. 1-47, 2003.

OSTROSKY, Elissa A; MIZUMOTO, Mirian K.; LIMA, Marcos E. L.; KANEKO, Telma M.; NISHIKAWA, Suzana O.; FREITAS, Beatriz R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração

inibitória mínima (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n. 2, p. 301-307, Abr./Jun. 2008.

PACKER, Janaina F.; LUZ, Marisa M.S. da. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p.102-107, Mar. 2007.

PINTO, Delia Manuela Luna. **Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial e do extrato de *Minthostachys setosa* (Briq.) Epling**. São Paulo: USP, 2009. 81f. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Fármacos e Medicamentos – Área de Produção e Controle Farmacêuticos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

PINTO, Terezinha de Jesus Andreoli; KANEKO, Telma Mary; OHARA, Mitsuko Taba. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 2ª edição. São Paulo: Atheneu Editora, 2003.

SAAD, Glaucia de Azevedo; LÉDA, Paulo Henrique de Oliveira; SÁ, Ivone Manzali de; SEIXLACK, Antônio Carlos de Carvalho. **Fitoterapia Contemporânea : Tradição e Ciência na Prática Clínica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

SANTOS, Ana Lourdes Rodrigues dos. **Avaliação do sistema conservante em formulação com extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius Raddi* – Anacardiaceae**. Natal: UFRN, 2007. 112f. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.

SOARES, M.L.; BUSTAMANTE, K.G.L.; FIGUEIREDO, A.D.L.; PIMENTA, F.C.; FIUZA, T.S.; BARA, M.T.F.; TRESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R. Análise da atividade antimicrobiana das folhas de *Davilla elliptica* St. –Hil. (Dilleniaceae). **Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 30, n.2, p. 55-58, Set. 2009.

## GLOSSÁRIO

**Aeróbio-** categoria de microorganismos que requerem a presença de oxigênio para se reproduzirem.

**Aeróbio facultativo-** categoria de microorganismo que se reproduz na presença ou ausência de oxigênio.

**Ágar-** extrato coloidal gelatinoso feito de algas. Consiste de agarose e agarpectina e é usado como meio de cultura para o crescimento microbiológico. Apresenta-se na forma semi-sólido à temperatura ambiente.

**Cepa-** microorganismo puro, que dá origem a microorganismos similares.

**Colônia-** crescimento visível, macroscópico, de microorganismos em meio de cultura sólido.

**Inóculo-** material que contém microorganismo vivo usado para inocular um meio ou para inoculação.

**Maceração-** operação que consiste em submeter uma substância à ação de um líquido, à temperatura ambiente, para que este se impregne dos princípios solúveis daquela.