

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DO LÁTEX DO AVELOZ (*Euphorbia tirucalli* L.), PINHÃO BRAVO (*Jatropha mollissima* L.) E PINHÃO ROXO (*Jatropha gossypifolia* L.) SOBRE MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS.

Francisco Angelo Gurgel da Rocha

Professor do IFRN - Campus Currais Novos. E-mail: angelo.gurgel@cefetrn.br

Leandro Ícaro Santos Dantas

Aluno do Curso Técnico Integrado em Alimentos e Bolsista de IC
IFRN - Campus Currais Novos. E-mail: leandroicarosantos@hotmail.com

RESUMO

Por milênios, o Homem tem explorado a flora como recurso terapêutico. Muitas das espécies medicinais utilizadas possuem fitoquímicos com potencial aplicação no controle do crescimento microbiano. A resistência microbiana crescente representa um sério risco à Saúde Coletiva, sendo necessário o desenvolvimento de projetos que visem a prospecção e/ou o desenvolvimento de novas drogas antimicrobianas. Na Caatinga da Região do Seridó do RN são encontradas as plantas medicinais *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill (Pinhão-bravo), a *Jatropha gossypifolia* L (Pinhão-roxo) e *Euphorbia tirucalli* L (Aveloz), pertencentes à Família Euphorbiaceae, na qual estão presentes fitoquímicos antimicrobianos. O presente projeto objetivou caracterizar a ação antibacteriana do látex destas espécies vegetais contra os patógenos *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi* e *Listeria monocytogenes*. Duplicatas de Placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton foram semeadas em superfície com culturas padronizadas de cada microrganismo. Foram perfurados poços de 10 mm de diâmetro nos quais se inoculou 100 µL das diluições dos látex testados. As placas foram incubadas a 35±2°C/24 h. Os halos de inibição quando existentes foram medidos e registrados. *L. monocytogenes* apresentou a maior sensibilidade ao látex de *J. mollissima*; *S. aureus* foi inibido por *J. mollissima* e *J. gossypifolia*, sendo mais sensível no primeiro caso. *S. typhi* e *S. typhimurium* apresentaram os maiores halos de inibição (*J. gossypifolia*), sendo *S. typhi* mais sensível ao látex de *J. gossypifolia* e *S. typhimurium* ao de *J. mollissima*. *E. tirucalli* não apresentou atividade inibitória. Padrões de sazonalidade parecem influenciar a capacidade inibitória do látex. Recomendamos que sejam efetuados estudos mais detalhados acerca das propriedades antimicrobianas do látex de *J. mollissima* e *J. gossypifolia*.

PALAVRAS-CHAVE: atividade antimicrobiana, *Jatropha mollissima*, *Jatropha gossypifolia*, *Euphorbia tirucalli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*.

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DO LÁTEX DO AVELOZ
(*Euphorbia tirucalli* L.), PINHÃO BRAVO (*Jatropha mollissima* L.) E PINHÃO
ROXO (*Jatropha gossypifolia* L.) SOBRE MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS.**

INTRODUÇÃO

A História das comunidades humanas tem refletido uma busca incessante por melhorias na qualidade de vida de seus integrantes. Nessa busca, a Fauna e a Flora têm fornecido por milênios as matérias-primas para a elaboração de abrigos, peças de vestuário, cosméticos e medicamentos. As espécies vegetais utilizadas para finalidades terapêuticas são genericamente denominadas “plantas medicinais”. Nos últimos anos, muitas das suas aplicações têm sido validadas cientificamente, relacionando-se a presença de certos fitoquímicos à sua atividade terapêutica indicada na Medicina Tradicional.

É bem conhecido que a eficácia terapêutica de uma planta medicinal não advém de um simples grupo de compostos, mas de uma grande variedade de fitoquímicos denominado “fitocomplexo”, cuja composição pode ser influenciada por fatores endógenos ou exógenos ao vegetal (CAPASSO *et al.*, 2000). Dada a grande variação de composição bioquímica e concentração de componentes bioativos no fitocomplexo, é esperado que uma mesma planta medicinal possa apresentar dezenas (e até centenas) de atividades biológicas distintas e em muitos casos, antagônicas entre si (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2009). Potencialmente, toda substância, independente de sua proporção no vegetal e de ser ou não conhecida, pode ser um princípio ativo (FILHO; YUNES, 1998).

Diante da megadiversidade brasileira, a possibilidade de utilização de fitoquímicos no desenvolvimento de novos produtos é uma perspectiva animadora em face à resistência bacteriana aos antibióticos. Remontando à década de 50, o fenômeno resulta do uso indiscriminado destas drogas, sendo que a ineficácia crescente de tais quimioterápicos constitui um problema crescente para a Saúde Coletiva, interferindo diretamente sobre o controle de microrganismos patogênicos (BACCARO *et al.*, 2002; NAWAZ, 2002). Dentre as espécies de patógenos que apresentam cepas resistentes, destacamos o *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium* e *Listeria monocytogenes*. Com base nisso, a presença de tais microrganismos em alimentos e superfícies de trabalho é uma preocupação prioritária para a Saúde Coletiva (BACCARO *et al.*, 2002; GAYOSO *et al.*, 2007; RAPINI *et al.*, 2007; MANTILLA *et al.*, 2008; RIBEIRO *et al.*, 2006).

É consenso na comunidade acadêmica que iniciativas que visem a prospecção de novas drogas antimicrobianas em plantas medicinais, possibilitam o desenvolvimento de moléculas mais eficientes no controle de microrganismos resistentes aos quimioterápicos convencionais. É reconhecido mundialmente que certas espécies vegetais possuem em seu fitocomplexo substâncias químicas com ação inibitória sobre microrganismos patogênicos (FRANZENER *et al.*, 2007; CORDEIRO *et al.*, 2006; FENNER *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2007; SOARES *et al.*, 2007; USHIMARU *et al.*, 2007). Dentre as espécies vegetais potencialmente úteis ao controle de microrganismos resistentes aos antibióticos encontradas na Região do Seridó do Rio Grande do Norte estão a *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill - pinhão-bravo, *Jatropha gossypifolia* L - pinhão-roxo e *Euphorbia tirucalli* L - Aveloz (MATOS, 1987), espécies lactescentes pertencentes à

Família Euphorbiaceae (BRAGA, 1960; BARG, 2004; BRASILEIRO *et al.*, 2006). A Família Euphorbiaceae é um objeto interessante de estudo, já que existem relatos da presença de princípios ativos antibacterianos como apigenina, β -sitosterol, taninos, ácido cítrico, ácido elágico e ácido málico em várias de suas espécies (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2009). Apesar de seu potencial uso como fonte de antimicrobianos, as espécies mencionadas têm sido alvos de pouco ou nenhum estudo no tocante às suas propriedades antibacterianas: levantamento bibliográfico indicou a existência de trabalhos acerca de ação antibacteriana de *E. tirucalli* (MOHANA *et al.*, 2008; PARECH *et al.*, 2007). *J. mollissima* e *J. gossypifolia*, no entanto, não aparentam ter sido objeto de pesquisas com esta finalidade. Portanto, inexistem estudos comparativos da ação antibacteriana *in vitro* das três espécies.

O presente trabalho objetivou caracterizar a atividade antibacteriana do látex das espécies vegetais mencionadas sobre os patógenos *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium* e *Listeria monocytogenes*, comparando a efetividade de sua ação, bem como a influencia sazonal sobre o efeito inibitório.

METODOLOGIA

Conforme a classificação de Gil (1991) utilizou-se uma abordagem Experimental, na qual se avaliou a ação do látex dos vegetais referenciados sobre os microrganismos-alvo descritos.

Espécies medicinais estudadas, parte coletada e área da coleta.

Foram testadas amostras do látex obtido a partir de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill (Pinhão-Bravo), *Jatropha gossypifolia* L (Pinhão-Roxo) e *Euphorbia tirucalli* L (Aveloz). Os espécimes estudados foram selecionados e identificados, no município de Cruzeta (06°24'43,2" Sul; 36°47'24,0" Oeste) e Acari (06°26'9,6" Sul; 36°38'20" Oeste), ambos situados na mesorregião Central Potiguar e na microrregião Seridó Oriental, com clima quente e sem-árido (BRASIL, 2005^a; BRASIL, 2005^b).

Coleta das amostras

Após a seleção do espécime e sua correta identificação botânica, foram coletados cerca de 10 mL de látex (para cada uma das repetições), utilizando-se para tanto ação mecânica lesiva aos tecidos vegetais. O material foi recolhido em tubos de ensaio com tampa rosqueável estéreis, identificados por etiqueta contendo: nome da espécie, data da coleta e nome do coletor. O mesmo exemplar foi utilizado para as coletas subsequentes. Os tubos contendo as amostras de látex devidamente identificados foram envolvidos em papel alumínio e encaminhados ao Laboratório de Alimentos do IFRN – Campus Currais Novos, onde foram mantidos sob refrigeração a 10°C e protegidos da luz até o momento da sua utilização nos experimentos, obedecendo ao prazo máximo de 48 horas para o início dos experimentos.

Preparo das Diluições Seriais

Utilizando-se solução salina estéril, foram preparadas diluições seriais do látex de cada uma das espécies, com concentrações de 100% (não diluído), 80%, 60%, 40%, 20%, 10%. As diluições foram acondicionadas individualmente em frascos fechados e identificados, protegidos da incidência de luz e mantidos sob refrigeração a 10°C até o momento de sua utilização.

Microrganismos-alvo

A atividade antibacteriana das espécies vegetais estudadas foi testada sobre os microrganismos *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*. As culturas puras foram obtidas a partir da bacterioteca do IFRN Campus Currais Novos.

Padronização do inóculo

Os inóculos foram padronizados utilizando-se o padrão 0,5 da escala de McFarland. Os microrganismos foram inoculados em tubos de ensaio contendo caldo BHI estéril e incubados a 37 °C em condições aeróbias por 2 a 6 horas, após o que foram comparados ao padrão McFarland 0,5. 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).

Inoculação das Placas de Teste

Foram utilizadas placas de Petri de 180 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. As placas foram mantidas entreabertas na Cabine de Segurança Biológica pelo tempo máximo de 5 minutos, permitindo a absorção/evaporação do excesso de umidade (NCCLS, 2003).

Teste de difusão em ágar e leitura dos resultados

Em cada uma das placas semeadas, foram perfurados 7 poços, sendo um deles central e os demais periféricos. A distância mínima entre os poços foi de aproximadamente 20 mm. Para cada poço foi transferido 100 µl do látex puro de cada espécie e de suas diluições progressivas (VALGAS, 2007). O controle positivo foi inoculado no poço central, ao qual foi adicionado 100 µl de Cloranfenicol (4mg/mL). As placas foram incubadas a 37 °C/24 h em condições aeróbias, após o que se verificou 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).

RESULTADOS

Os dados referentes ao espectro de ação das espécies vegetais sobre os microrganismos-alvo, são descritos nas tabelas 1 e 2.

Os maiores halos de inibição gerados foram obtidos a partir dos látex não-diluídos de *J. mollissima* (*L. monocytogenes*, 20 mm; *S. typhimurium*, 20 mm) e *J. gossypifolia* (*S. typhi*, 25 mm; *S. typhimurium*, 22 mm).

Os dados obtidos permitem estabelecer que *L. monocytogenes* é mais sensível ao látex de *J. gossypifolia*. Embora o halo obtido com o látex não-diluído de *J. mollissima* tenha sido maior (tabela 1), observou-se que a inibição do microrganismo ocorre em concentração quatro vezes menor quando exposto ao látex de *J. gossypifolia* (tabela 2). Isto provavelmente deve-se às possíveis diferenças na composição química dos látex testados.

Tabela 1: Diâmetro dos maiores halos de inibição observados, obtidos a partir de frações do látex não-diluído (JM= *Jatropha mollissima*; JG = *Jatropha gossypifolia*; ET= *Euphorbia tirucalli*).

Microrganismo	Período	Espécie vegetal/Halo de inibição (mm)			Controle + Cloranfenicol (mm)
		JM	JG	ET	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Chuvoso	20	15	-	36
	Seco	15	17	-	35
<i>Staphylococcus aureus</i>	Chuvoso	14	-	-	33
	Seco	15	15	-	33
<i>Salmonella typhi</i>	Chuvoso	18	25	-	31
	Seco	12	-	-	30
<i>Salmonella typhimurium</i>	Chuvoso	20	22	-	39
	Seco	12	-	-	38

S. aureus foi inibido por *J. mollissima*, e por *J. gossypifolia*, sendo que halo desta última foi obtido a partir do látex do período seco. A amostra coletada durante o período chuvoso não apresentou inibição contra o microrganismo.

S. typhi e *S. typhimurium* apresentaram os maiores halos de inibição, quando expostos ao látex de *J. gossypifolia* (tabela 1). *S. typhi* mostrou-se mais sensível ao látex testado de desta espécie, enquanto *S. typhimurium* ao de *J. mollissima* (tabela 2), com inibição de crescimento frente às diluições mais elevadas.

Verificou-se que dentre as espécies vegetais testadas, o látex de *J. mollissima* apresentou o espectro de ação mais amplo, inibindo o crescimento de todos os microrganismos-alvo e mantendo a sua atividade inibitória, com variações, tanto no período chuvoso quanto no seco. O látex de *J. gossypifolia* mostrou-se como o segundo mais efetivo. Os resultados apontam para uma possível influência da disponibilidade hídrica sobre as propriedades inibitórias dos látex de *J. mollissima* e *J. gossypifolia* (tabela 1, tabela 2 e figura 1).

É razoável hipotetizar que tais diferenças na atividade inibitória das amostras de látex devam-se às variações na composição química dos mesmos, uma vez que o fitocomplexo é afetado pelas diversas interações ecológicas às quais as espécies vegetais estão submetidas em seus ambientes, dentre as quais estão o estresse hídrico e o clima (CAPASSO *et al.*, 2000).

A atividade inibitória relatada por Mohana *et al* (2008) e Parech *et al* (2007) para os extratos aquoso e metanólico de *E. tirucalli*, não foi observada em seu látex. Isto pode dever-se tanto à utilização do látex *in natura* e diluído ao invés dos extratos mencionados, quanto pelas possíveis variações na composição do fitocomplexo já discutidas.

Tabela 2: menores concentrações nas quais se observou halo de inibição (JM= *Jatropha mollissima*; JG = *Jatropha gossypifolia*).

Microrganismo	Diluição Inibitória Mínima/Espécie		
	Período	JM	JG
<i>Listeria monocytogenes</i>	Chuvoso	40%	10%
	Seco	40%	10%
<i>Staphylococcus aureus</i>	Chuvoso	60%	-
	Seco	20%	10%
<i>Salmonella typhi</i>	Chuvoso	60%	40%
	Seco	60%	40%
<i>Salmonella typhimurium</i>	Chuvoso	40%	60%
	Seco	60%	-

Espectro de inibição x disponibilidade hídrica

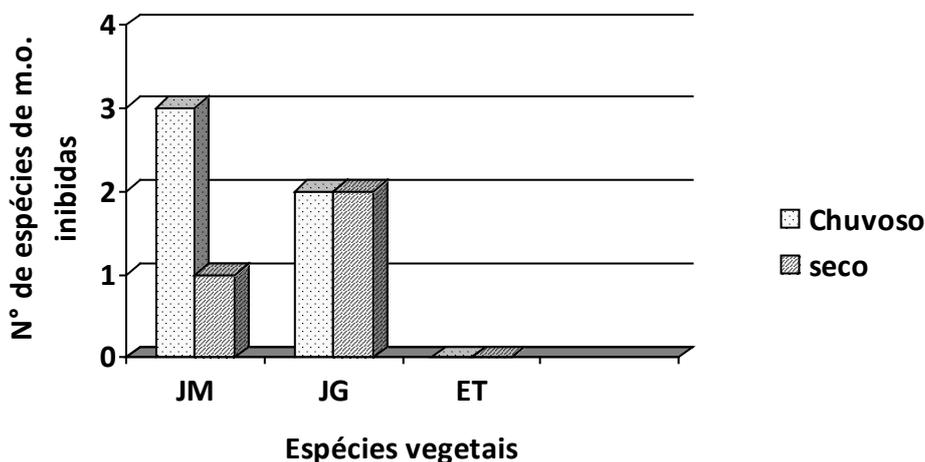


Figura 1: maiores respostas inibitórias observadas (látex não-diluído) relacionadas ao período de coleta correspondente (JM= *Jatropha mollissima*; JG = *Jatropha gossypifolia*; ET= *Euphorbia tirucalli*).

CONCLUSÕES

L. monocytogenes apresentou a maior sensibilidade ao látex de *J. mollissima*; *S. aureus* foi inibido por *J. mollissima* e *J. gossypifolia*, sendo mais sensível a esta última. *S. typhi* e *S. typhimurium* foram os microrganismos que apresentaram maiores halos de inibição (*J. gossypifolia*), sendo que *S. typhi* é mais sensível ao látex de *J. gossypifolia*, enquanto *S. typhimurium* ao de *J. mollissima*. *E. tirucalli* não apresentou qualquer atividade sobre os microrganismos testados. *J. mollissima* inibiu todos os patógenos, tanto no período chuvoso, quanto no seco. A disponibilidade hídrica parece ser um fator determinante para a presença de atividade inibitória no látex das espécies vegetais estudadas. Diante dos resultados obtidos, propomos que sejam realizados estudos mais detalhados acerca das propriedades antimicrobianas do látex de *J. mollissima* e *J. gossypifolia*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

BARG, Débora Gikovate. **Plantas tóxicas. Monografia.** IBEHE/FACIS. São Paulo, 2004. Disponível em http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/plantas_toxicas.pdf. Acesso em 31/03/2009.

BRAGA, Renato. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará.** 5 . ed. Mossoró: Fundação Vingt-Un Rosado, 1960.

BRASIL. MINISTÉRIO DAS MINAS E ENERGIA. **Projeto de fontes de abastecimento por água subterrânea no Estado do Rio Grande do Norte: Diagnóstico do Município de Acari.** Recife, 2005^a.

BRASIL. MINISTÉRIO DAS MINAS E ENERGIA. **Projeto de fontes de abastecimento por água subterrânea no Estado do Rio Grande do Norte: Diagnóstico do Município de Cruzeta.** Recife, 2005^b.

BRASILEIRO, Beatriz Gonçalves; Pizziolo, Virgínia Ramos; RASLAM, Délio Soares; JAMAL, Cláudia M.; SILVEIRA, Damaris. **Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some brazilian medicinal plants used in Governador Valadares District.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. V 42, n 2, 2006.

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

CORDEIRO, C. H. G.; SACRAMENTO, L. V. S.; CORRÊA, M. A.; PIZZOLITTO, A. C.; BAUAB, . M.. **Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal.** Brazilian journal of Pharmaceutical Sciences. V 42, n 3, jul-set, 2006.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A.; RATES, S. M. K.. **Plantas utilizadas na medicina popular com potencial atividade antifúngica.** Brazilian journal of Pharmaceutical Sciences. V 42, n 3, jul-set, 2006.

FILHO, Valdir Chechinel; YUNES, Rosendo, A.. **Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre a modificação estrutural para otimização da atividade.** Química nova, 21, 1. 1998.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, A. da Silva.; STANGARLIN, J. R.; CZEPAK, M. P.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.. **Antibacterial, antifungal and phytoalexins induction activities of hydrolates of medicinal plants.** Semina: ciências Agrárias, Londrina, v 28, n 1, p 29-38. jan-mar 2007.

GAYOSO, M. de Fátima 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 Oftalmo., 70, 2007.

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

LIMA, M. R. F.; XIMENES, E. C. P.; LUNA, J. S.; SAT'ANA, A. E. G.. The **antibiotic activity of some medicinal plants.** Brazilian journal of pharmacognosy. V 16, n 3, p 300-306, jul-set 2006.

MANTILLA, S. P. S.; FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, L. A. T. de Oliveira; 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.

MATOS, F. J. de Abreu. O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha. Coleção ESAM, ano XX, v 18. Coleção Mossoroense. Mossoró, RN, 1987.

MOHANA, D. C.; SATISH, S.; RAVESHA, K. A.. **Antibacterial evaluation of some plant extract against some human pathogenic bacteria.** Advances in biological research 2 (3-4): 49 -55, 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. Pennsylvania, USA, 2003.

PAREKH, Jigna; CHANDRA, Sumitra V.; **In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants.** Turk. J Biol. 2007.

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.

SILVA, J. G. da; SOUZA, I. A.; HIGINO, J. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.. **Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium***

occidentale Linn. **Em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus***. Revista brasileira de farmacognosia. 17(4): 572-577, out-dez 2007.

SOARES, D. G. S.; OLIVEIRA, C. B.de; LEAL, C.; DRUMOND, M. R S.; PADILHA, W. W. N.. **Atividade antibacteriana *in vitro* da tintura de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) na descontaminação de escovas dentais contaminadas pelo *S. mutans***. Pesq Brás Odontoped Clin Integ. João Pessoa, 7(3): 253-257, set-dez 2007.

USHIMARU, P. I.; SILVA, M. T. Nogueira da; DI STASI, L. C.; BARBOSA, L.; JÚNIOR, A F.. **Antibacterial activity of medicinal plant extracts**. Brazilian Journal of Microbiology. 38: 717-719. 2007.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. Dr. **Duke's phytochemical and ethnobotanical databases. Base de dados**. Disponível em: <http://www.ars-grin.gov/duke/>. Acesso em: 06 abr 2009.

VALGAS, C.; SOUZA, S. M de. SMÂNIA, E. F. A.; SMÂNIA JUNIOR, A.. **Screening methods to determine antibacterial activity of natural products**. Brazilian Journal of microbiology. 38: 369-380. 2007.