

Avaliação da atividade antimicrobiana da casca de *Mimosa caesalpinifolia* Benth (Sabiá)

M. J. A. Callou¹; R. C. M. Miranda²; T. R. Feitosa¹; F. V. F. Arruda¹;
M. S. Nascimento¹; N. B. Gusmão¹

¹Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife-Pe, Brasil

²Universidade Federal de Sergipe, 49100-000, São Cristóvão-Se, Brasil

maira_callou@hotmail.com

(Recebido em 01 de novembro de 2011; aceito em 13 de janeiro de 2012)

As plantas são importantes fontes de substâncias capazes de inibir o crescimento de bactérias e fungos. A pesquisa de novos agentes antimicrobianos se faz necessária devido ao surgimento de micro-organismos resistentes e de infecções oportunistas fatais. Tais pesquisas podem contribuir significativamente na descoberta de novos agentes. A atividade antimicrobiana de uma espécie típica do bioma caatinga, a *Mimosa caesalpinifolia* Benth, foi estudada frente a três grupos de bactérias patogênicas: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Mycobacterium smegmatis* e a levedura *Candida albicans*. Os extratos da planta, especialmente aqueles com o solvente acetato de etila, apresentaram capacidade de controlar o crescimento de uma ou mais espécies de microrganismos com média de halos entre 11 a 23 mm. A Concentração Mínima Inibitória (CMI) realizada com este extrato apresentou concentração de 128 µg/mL, resultado este considerado forte inibição em se tratando de extrato de planta. O teste de sinergismo entre o extrato acetato de etila e antibióticos de referência, apresentaram efeito sinérgico na interação entre o extrato da planta e a polimixina na inibição da *P. aeruginosa*. O extrato da planta mostrou bom potencial de aplicação como antimicrobiano.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana; *Mimosa caesalpinifolia*; acetato de etila

Plants are important sources of substances that inhibit the growth of bacteria and fungi. The search for new antimicrobial agents is necessary due to the emergence of resistant microorganisms and fatal opportunistic infections. The antimicrobial activity of a caatinga biome typical species, *Mimosa caesalpinifolia* Benth was studied against three groups of pathogenic bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Mycobacterium smegmatis* and yeast *Candida albicans*. The plant extracts, especially the extraction with ethyl acetate, showed the ability to control the growth of one or more species of microorganisms, with inhibition values range from 11 to 23mm. The minimal inhibitory concentration (MIC) was 128 µg/mL to *M. caesalpinifolia* ethyl acetate extract, this concentration is considered as a stronger inhibition to a plant extract. Furthermore, the ethyl extract showed synergistic effect with Polimixina against *P. aureginosa*. The plant extracts us showed good potential for application with antimicrobial.

Key-words: Antimicrobial activity; *Mimosa caesalpinifolia*; ethyl acetate

1. INTRODUÇÃO

Não se pode precisar com exatidão a origem da fitoterapia, mas desde a antiguidade o homem aprendeu a conhecer as plantas e tirar proveito de suas propriedades curativas. As plantas foram por quase toda a história da humanidade a maior e mais importante fonte de substâncias medicamentosas para aliviar e curar os males humanos [1].

Compostos com propriedades antimicrobianas, que fazem parte dos metabólitos secundários das plantas, têm sido reconhecidos empiricamente durante séculos, mas cientificamente vem sendo confirmadas nas últimas décadas. Vários grupos de pesquisadores estudam a atividade biológica de plantas e suas propriedades medicinais originárias de diversas regiões do mundo, orientados pelo uso popular das espécies nativas. Extratos de plantas mostram-se eficientes no controle do crescimento de uma ampla variedade de micro-organismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias [2].

A resistência aos antimicrobianos tem se apresentado como um problema complexo provocado por numerosos fatores, entre os quais se destaca o uso desses fármacos e, especialmente, seu uso indevido. A resistência não é um fenômeno novo, foi reconhecida como uma curiosidade científica [3]. Em 1940, Ernest Chain e E.P. Abraham descobriram uma substância originária da *Escherichia coli* capaz de inativar a penicilina, sendo reconhecido o primeiro mecanismo de resistência a um agente antibacteriano [4]. Os micro-organismos estão se mostrando cada vez mais resistentes aos antimicrobianos conhecidos, o que incentiva ainda mais a procura por antibióticos de ocorrência natural [2].

Rios & Recio [5] (2005) fizeram um levantamento do número de artigos publicados sobre a atividade antimicrobiana de plantas medicinais no PubMed, e encontraram 115 trabalhos durante o período entre 1966 e 1994, no entanto, na década seguinte, entre 1995 e 2004, esse número mais que dobrou para 307. Porém ainda não suficientes, dada a grande variedade de plantas em que não foram avaliadas suas propriedades antimicrobianas.

Os medicamentos fitoterápicos são a forma mais lucrativa da medicina tradicional, gerando bilhões de dólares em receitas. As receitas anuais na Europa Ocidental atingiram US\$ 5 bilhões em 2003-2004. A venda de produtos na China totalizou US\$ 14 bilhões em 2005. As receitas fitoterápicas no Brasil renderam 160 milhões de dólares em 2007 [6].

A caatinga é um bioma brasileiro com uma biodiversidade significativa, entretanto pouco estudada e intimamente associada a uma herança cultural diversa [7].

O sabiá, *Mimosa caesalpinifolia* Benth, ocorre naturalmente em áreas da caatinga de vários estados da região Nordeste. É utilizada como forragem na alimentação de animais, para a recuperação de áreas degradadas e proteção de solos contra a erosão [8]. Piña-Rodrigues & Lopes [9] (2001) avaliaram o potencial alelopático do Sabiá e concluíram que os extratos da folha promoveram o retardamento e inibição da germinação das sementes da espécie estudada, o ipê-amarelo.

O objetivo deste trabalho foi verificar a susceptibilidade de microrganismos de interesse clínico ao extrato bruto da planta *Mimosa caesalpinifolia* Benth, para posterior isolamento das substâncias que lhe conferem propriedade antimicrobiana. Servindo de guia a futuros trabalhos toxicológicos e farmacológicos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A seleção da *Mimosa caesalpinifolia* Benth foi determinada através de uma abordagem quimiotaixonômica e filogenética, correlacionando esta espécie com a ocorrência de substâncias químicas com atividade antimicrobiana no mesmo gênero.

Os solventes foram selecionados partindo de princípios de polaridade, utilizando-se três tipos de solventes: apolar (ciclohexano), de polaridade moderada (acetato de etila) e polar (metanol). Visando uma partição das substâncias através das suas polaridades, obtendo um máximo de eficiência extrativa.

Foi utilizada a casca da *M. caesalpinifolia* Benth adquirida madeiros, em São Lourenço da Mata - Pernambuco no mês de outubro de 2010, previamente secas à temperatura ambiente. Por conseguinte, passaram por um processo de moagem sendo utilizada 130g numa extração sequencial, com solventes de polaridades crescentes. O solvente foi colocado em contato com a casca durante 24 horas, sob condições estáticas. Após este período, o solvente foi removido por filtração, e ao resíduo adicionado o novo solvente. Após extração os solventes foram concentrados à vácuo em evaporador rotatório (Marca Buchi).

Foram selecionados quatro micro-organismos da Coleção de Cultura de Microrganismos do Departamento de Antibióticos da UFPE (UFPEDA), Recife-PE. Sendo utilizada uma espécie para cada um dos grupos de bactérias: Gram-positiva, Gram-negativa, álcool-ácido resistente (AAR) e uma levedura. Estão listados a seguir os micro-organismos utilizados e os seus números de registros na Coleção de Cultura: *Staphylococcus aureus*- UFPEDA 01, *Pseudomonas aeruginosa*-UFPEDA 39, *Mycobacterium smegmatis*- UFPEDA 71 e *Candida albicans*- UFPEDA 1007.

A atividade antimicrobiana foi realizada de acordo com a metodologia de Kirby e Bauer [10] (1966) de difusão em meio sólido, onde discos de papel foram embebidos com 10 µL do extrato da planta solubilizados em Dimetilsufóxido (DMSO P.A.) na concentração de 200.000 µg/mL. Os discos com 6mm de diâmetro foram colocados em placas de Petri contendo Ágar Mueller Hinton semeadas com os microrganismos testados previamente padronizados na escala 0,5 de McFarland, as mesmas foram incubadas a 37 e 30°C por 24 a 48 horas, para bactérias e leveduras respectivamente. Em seguida realizada a leitura dos halos de inibição (mm). Os testes foram realizados em triplicatas para posterior tratamento estatístico.

Visando a identificação dos metabólitos secundários presentes na casca da planta em estudo foram realizados testes fitoquímicos baseados na metodologia descrita por Costa [11] (1982). Foram realizados os testes de Dragendorff; Mayer, Shinoda, Espuma, Cloreto Férrico e Liebermann-Buchard visando, respectivamente, a determinação de Alcalóides, Flavonóides, Saponinas, Taninos, Terpenos e Esteróides.

Para determinação da menor concentração do extrato com inibição bacteriana do *S. aureus* e de *P. aeruginosa*, foram realizados testes segundo a metodologia desenvolvida por Eloff [12] (1998) em placas de microdiluição (96 poços), onde nas duas primeiras colunas foram realizados, respectivamente, os controles negativos (meio sem adição de micro-organismos e substâncias) e positivos (meio de cultivo mais o micro-organismo). As colunas restantes foram destinadas a diluições seriadas do extrato que apresente melhor extração de substâncias bioativas em caldo Mueller Hinton. Suspensões bacterianas correspondendo à escala 0,5 de McFarland foram adicionadas em todos os poços, exceto a primeira coluna (controle negativo). As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas para crescimento bacteriano, após este período foi adicionado 15 µL de resazurina (0,001%) aos poços como revelador da reação. As placas foram incubadas a 35°C e após 4 horas foi realizada a leitura da reação.

Foi realizado ainda um teste de sinergismo entre o extrato da planta e antibióticos preconizados. O teste foi realizado com base na metodologia de Kirby e Bauer [10] (1966) de difusão em meio sólido para acompanhar a co-relação dos antibióticos utilizados na clínica mais o extrato bruto da casca do sabiá. Foram utilizados discos de papel embebidos com 10 µL do extrato da planta na concentração de 200.000µg/mL para avaliar o potencial do extrato do Sabiá isoladamente. Os discos de antibióticos Vancomicina 30µg para o *S. aureus* e Polimixina B 300 µg para a *P. aeruginosa* foram testados isoladamente e embebidos com 10 µL do extrato. Sendo em seguida colocados em placas de Petri contendo Ágar Mueller Hinton previamente semeadas com as suspensões padronizadas na escala 0,5 de McFarland dos micro-organismos teste estas foram incubadas a 35°C e após 24 horas foi mensurado o halo de inibição (mm). Os testes foram realizados em triplicata.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato da casca da casca da planta *Mimosa caesalpinifolia Benth* demonstrou resultados satisfatórios, confirmando a relevância da abordagem utilizada para seleção da espécie estudada. Existem vários relatos da presença de atividade antimicrobiana de extrato de várias partes da planta *Mimosa Tenuiflora* Wild [13-17], baseado nesses dados foi selecionada a espécie estudada, que possui através de uma abordagem quimiotaxonômica e filogenética maior probabilidade de resultados significativos que as plantas selecionadas aleatoriamente, que é o caso das abordagens randômicas que segundo Maciel et al. [18] (2002) são as mais utilizadas como método de seleção para estudos com planta.

As propriedades antimicrobianas da *Mimosa caesalpinifolia* Benth, são pouco relatadas porém os dados existentes sobre a *M. tenuiflora* Wild, conhecida popularmente como Jurema-preta, nos serviram como base de resultados para avaliar a eficácia dos resultados e compará-los.

Os resultados obtidos com a atividade antimicrobiana podem ser verificados na tabela 2, bem como os valores do desvio padrão.

Tabela 1: Média dos halos de inibição e do desvio padrão.

Solventes	Halos de inibição (mm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>M. smegmatis</i>	<i>C. albicans</i>
Ciclohexano	-	-	-	11±1,8
Acetato de Etila	16±1,0	20±0,7	13±1,0	12±1,0
Metanol	12±0,9	-	23±1,0	-

(-) Ausência de inibição.

Os resultados obtidos demonstraram que o ciclohexano só extraiu substância com ação antifúngica, o metanol só para as bactérias Gram-positiva e a álcool-ácido resistente. Enquanto que o acetato de etila apresentou inibição para todos os organismos testados. O extrato ciclohexano apresentou atividade antifúngica com média de halo de 11mm. Resultado considerado satisfatório quando comparado ao trabalho desenvolvido por Pereira et al. [15] (2009), que avaliando o potencial antifúngico da casca *M. tenuiflora* Wild frente a isolados de *Candida* sp verificaram a ocorrência de halos de inibição igual e superior a 10 mm, onde observaram ainda que a atividade antifúngica do extrato bruto foi superior a dos controles positivos realizados com o antifúngico nistatina que apresentou halos iguais ou inferiores a 10 mm.

O acetato de etila demonstrou os melhores resultados inibindo todos os micro-organismos testados com halos consideráveis, mostrando um bom potencial de aplicação como antimicrobiano. Sobretudo quando se analisa a inibição frente à *Pseudomonas aeruginosa*, que segundo Rossi & Andreazzi [4] (2005) pode expressar uma série de mecanismos de resistência, como a produção da beta-lactamase, permeabilidade bastante reduzida à entrada de antibióticos e a presença de bombas de efluxo, levando à resistência intrínseca a múltiplos antibióticos.

Golçalves et al. [13] (2005) verificaram a atividade antimicrobiana de 17 espécies vegetais nativas no Brasil, inclusive a *M. tenuiflora*, e dentre as 10 bactérias testadas a *P. aeruginosa* demonstrou resistência a todas as espécies estudadas. Enquanto que, Lôbo et al. [19] (2010) avaliando o potencial antibacteriano de duas espécies vegetais da caatinga, *Solanum paniculatum* e de *Operculina hamiltonii* verificaram eficiência apenas no extrato de *S. paniculatum* indicando sensibilidade a *S. aureus* e *P. aeruginosa*, porém com média de halos inferiores as obtidas neste trabalho.

Com os testes realizados com o extrato metanólico podemos verificar que diferente dos outros solventes não foram extraídas substâncias com atividade antifúngica. Contudo, demonstrou halos de inibição frente ao *S. aureus* e a *M. smegmatis*. Aguiar et al. [20] (2008) obtiveram a partir do extrato metanólico da folha da *Lippia alba* resultados semelhantes aos obtidos na extração com metanol da casca do Sabiá, onde o extrato da *Lippia alba* não demonstrou atividade frente a *P. aeruginosa* e a *C. albicans*, porém demonstrou atividade com halo de em média 11,3mm frente ao *S. aureus* e halo de em média 13,6mm para a *M. smegmatis*, resultado este, inferior ao obtido pelo extrato metanólico do Sabiá que apresentou halos de 23mm.

Padilha et al. [17] (2010) avaliaram a atividade antibacteriana da *Mimosa tenuiflora* extraído com Etanol frente a 30 isolados clínicos de *S. aureus* e relataram halos entre 14 a 30 mm de diâmetro. Bezerra et al. [16] (2009) verificando a sensibilidade de 25 cepas de *S. aureus*, isolados de amostras clínicas de mastite bovina, ao extrato etanólico da Jurema-preta obtiveram halos entre 6 a 30 mm e que foram superiores aos obtidos pelos antibióticos penicilina e azitromicina com halos entre 5 e 9 mm respectivamente.

A partir dos resultados obtidos com o teste de atividade antimicrobiana, foi realizada uma análise de variância através do software Statística 6.0, confirmando que há uma diferença significativa entre o potencial antimicrobiano dos extratos ciclohexano – acetato de etila, ciclohexano-metanol e metanol – acetato de etila com *p* menor que 0,05, sendo a extração com

acetato de etila o solvente responsável pela melhor obtenção dos princípios ativos da planta. Justificando a escolha de apenas este o extrato para realização dos testes adicionais.

O conhecimento prévio dos componentes químicos encontrados nos vegetais é necessário, pois fornece a relação dos seus principais metabólitos [21]. A abordagem fitoquímica realizada para evidenciar as classes de metabólitos secundários predominantes na casca do Sabiá, revelou presença de alcalóides, terpenos e esteróides e taninos (Tabela 2). Bezerra et al. [21] (2011) verificaram os compostos fitoquímicos da *M. tenuiflora* Wild e observaram a presença desses mesmos compostos na casca da planta estudada.

Tabela 2: Abordagem fitoquímica

Classe de compostos	Resultados
Alcalóides	+
Flavonóides	-
Saponinas	-
Taninos	+
Terpenos e esteroides	+

(+) Presença de compostos (-) Ausência de compostos

Ostrosky et al. [22] (2008) concluíram em seu trabalho que o método de diluição desenvolvido por Eloff [12] (1998) para determinação da CIM vem sendo bastante utilizado, principalmente devido à sua sensibilidade e quantidade mínima de reagentes, o que possibilita um maior número de réplicas, aumentando a confiabilidade dos resultados.

A concentração mínima inibitória adquirida com o extrato acetato de etila da casca do Sabiá tanto frente ao *S. aureus*, quanto a *P. aeruginosa* foi de 128 µg/mL.

Segundo Duarte et al. [2] (2006) não existe um consenso sobre o nível de inibição aceitável para produtos naturais, tanto que alguns autores consideram somente resultados similares aos de antibióticos, enquanto outros consideram com bom potencial mesmo aqueles com níveis de inibições inferiores.

Aligianis et al. [23] (2001) propuseram uma classificação para materiais vegetais com base nos resultados de CIM, considerando como: forte inibição - CIM até 500 µg/mL; inibição moderada - CIM entre 600 e 1500 µg/mL e como fraca inibição - CIM acima de 1600 µg/mL.

Os resultados com o teste de interação entre o extrato da planta e antibióticos preconizados demonstraram que não houve um efeito considerável entre o extrato da planta com a Vancomicina 30 µg na inibição do *S. aureus*. Entretanto, observou-se que houve um comportamento sinérgico entre o extrato da planta e a Polimixina B 300 µg frente a *P. aeruginosa*, que se apresentou mais sensível com essa interação do que quando observada sua sensibilidade ao antibiótico utilizado. Como podemos observar na tabela 3.

Tabela 3: Média dos halos de inibição dos antibióticos e de interação com o extrato.

Micro-organismo	Halos de inibição (mm)	
	Antibiótico	Antibiótico + Extrato da planta
<i>S. aureus</i>	17±0,5	18±0,9
<i>P. aeruginosa</i>	12±1,0	16±0,2

Considerou-se como efeito sinérgico, quando houve ocorrência de halo de inibição do crescimento microbiano formado pela aplicação combinada entre o extrato da planta mais o antibiótico com diâmetro \geq que 2mm, quando comparado com o halo de inibição formado pela

ação do antibiótico isoladamente. Foi considerado como efeito indiferente, quando da observação de halo de inibição conseqüente à aplicação combinada entre o extrato e antibiótico com diâmetro igual aquele conseqüente da aplicação isolada do antibiótico [24].

Oliveira et al. [25] (2006) avaliando a interferência de óleos essenciais de quatro plantas medicinais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica verificaram efeitos sinérgicos e antagônicos na interação sobre *S. aureus*, enquanto a *P. aeruginosa* foi a cepa menos sensível ao uso combinado dos antibióticos e óleos essenciais.

Canton & Onofre [26] (2010) verificaram a ação combinada do extrato de *Baccharis dracunculifolia* sobre a ação antibacteriana de alguns antibióticos de referência inibidores da síntese de parede celular, onde não foi observado sinergismo entre o extrato da planta e o antibiótico Vancomicina 30 µg frente ao *S. aureus*, como o resultado obtido com o extrato do Sabiá.

4. CONCLUSÃO

Concluimos através deste, que o extrato acetato de etila da casca *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth demonstrou ação antimicrobiana para Gram positiva e Gram-negativa, álcool ácido resistente e anticandida, sendo, portanto uma confirmação do potencial deste extrato para a possível utilização dessa planta como indicação terapêutica. Verifica-se ainda que o extrato ciclohexano apresentou atividade somente para *Candida albicans* e o extrato metanólico somente para Gram positiva e álcool ácido resistente. A realização do CMI por microdiluição nos mostrou forte inibição, em se tratando de extrato de planta, apresentando uma inibição na concentração de 128 µg/mL. Com a interação entre o extrato do Sabiá e os antibióticos utilizados foi observado sinergismo através da polimixina mais o extrato acetato de etila para a *Pseudomonas aeruginosa*. A realização deste trabalho foi importante por não haver até o momento na literatura relatos da ação antimicrobiana da *M. caesalpiniiifolia* Benth.

5. AGRADECIMENTOS

PPBIO/semi-árido.

-
1. LIMA, J.L.S.; FURTADO, D.A.; PEREIRA, J.P.G.; BARACUHY, J.G.V.; XAVIER HS. Plantas medicinais de uso comum no Nordeste do Brasil. *Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento*. Campina Grande-PB (2006).
 2. DUARTE, M.C.T. Atividade Antimicrobiana de Plantas Mediciniais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. *MultiCiência* (2006).
 3. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Ginebra, Suíça (2001). Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO_CDS_CSR_DRS_2001.2_spa.pdf
 4. ROSSI F & ANDREAZZI, D.B. Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma. Editora Atheneu (2005).
 5. RIOS, J. L. & RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol* 100: 80-84 (2005).
 6. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Traditional Medicine (2008). Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>
 7. ALBUQUERQUE, U.P.; MEDEIROS, P.M.; ALMEIDA, A.L.; MONTEIRO, J.M.; LINS NETO, E.M.F.; MELO, J.G. et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology* 114 (3): 325-354 (2007).
 8. DRUMOND, M.A.; OLIVEIRA, V.R.; LIMA, M.F. *Mimosa caesalpiniiifolia*: Estudos de melhoramento genético realizados pela Embrapa-Semi-Árido. In: Queiroz, M.; Goedert, S.R.R.(eds). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro (on line). Versão 1.0. Petrolina-PE: EMBRAPA Semi-Árido/ Brasília-DF: EMBRAPA. Recursos Genéticos e Biotecnologia (1999). Disponível em: <http://www.cpatia.embrapa>.

9. PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. & LOPES, B.M. Potencial alelopático de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth sobre sementes de *Tabebuia alba* (Cham.) Sandw (2001).
10. BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. In: Microbiology: A centenary Perspective. *American Journal Clinical Path.* 45: 493-496 (1966).
11. COSTA, A. F. *Farmacognosia*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian (1982).
12. ELOFF, J.N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica* 64, 711-713 (1998).
13. GONÇALVES, A.L.; FILHO, A.A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. *Arquive Institute. Biology.*, São Paulo v.72, n.3, p.353-358 (2005).
14. MACÊDO-COSTA, M.R.; PEREIRA, M.R.V.; PEREIRA, L.F.; PEREIRA, A.V.; RODRIGUES, O.G. Atividade Antimicrobiana e Antiaderente do Extrato da *Mimosa tenuiflora* (Willd). Poir. Sobre Micro-organismos do Biofilme Dentário. *Pesquisa Brasileira Odontopediatria Clínica Integrativa*, João Pessoa, 9(2):161-165 (2009).
15. PEREIRA, A.V.; RODRIGUES, O.G.; LOBO, K.M.S.; BEZERRA, D.A.C.; MOTA, R.A.; COUTINHO, L.C.A.; et al. Atividade anti-fúngica do neem e jurema-preta sobre cepas de *Candida* spp isolados de vacas com mastite subclínica no Estado de Pernambuco. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 19(4): 818-822 (2009).
16. BEZERRA, D.A.C.; PEREIRA, A.V.; LOBO, K.M.S.; RODRIGUES, O.G.; ATHAYDE, A.C.R.; MOTA, R.A. et al. Atividade biológica da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poir.) sobre *Staphylococcus aureus* isolado de casos de mastite bovina. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 19(4): 814-817 (2009).
17. PADILHA, I.Q.M.; PEREIRA, A.V.; RODRIGUES, O.G.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P.; PEREIRA, M.S. Antimicrobial activity of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. From Northeast Brazil against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 20(1): 45-47 (2010).
18. MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA, V.F.; GRYNBERG, N.M; ECHEVARRIA, A. Plantas Medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova* v. 25: 429-438 (2002).
19. LÔBO, K.M.S.; ATHAYDE, A.C.R.; SILVA, A.M.A.; RODRIGUES, F.F.G.; LÔBO, I.S.; BEZERRA, D.A.C.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples, do semiárido paraibano. *Revista Brasileira Plantas Medicinais.*, Botucatu 12 (2): 227-233 (2010).
20. AGUIAR, J.S.; COSTA, M.C.C.D.; NASCIMENTO, S.C.; SENA, K.X.F.R. Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brow (Verbenaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18(3): 436-440 (2008).
21. BEZERRA, D.A.C.; RODRIGUES, F.F.G.; COSTA, J.G.M.; PEREIRA, A.V.; SOUSA, E.O.; RODRIGUES, O.G. Abordagem fitoquímica, composição bromatológica e atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret E *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 33, n. 1, p. 99-106 (2011).
22. OSTROSKY, E.A.; MIZUMOTO, M.K.; LIMA, M.E.L.; KANEKO, T.M.; NISHIKAWA, S.O.; FREITAS, B.R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18(2): 301-307 (2008).
23. ALIGIANIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINOU, I.B. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two *Origanum* species, *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 49: 4168-4170 (2001).
24. CLEELAND, L & SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials in vitro and experimental animal infections. In: Lorian VMD. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Baltimore: Williams & Wilkins p. 739-788 (1991).
25. OLIVEIRA, R.A.G.; LIMA, E.O.; VIEIRA, W.L.; FREIRE, K.R.L.; TRAJANO, V.N.; LIMA, I.O.; et al. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16(1): 77-82 (2006).
26. CANTON, M. & ONOFRE, S.B. Interferência de extratos da *Baccharis dracunculifolia* DC. Asteraceae, sobre a atividade de antibióticos usados na clínica. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 20(3): 348-3 (2010).