



### Efeito Antimicrobiano do Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) sobre Cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* Isoladas de Pacientes de um Hospital Escola do Sul de Minas

*Antimicrobial Effect of Rosemary (Rosmarinus officinalis) on Strains of Staphylococcus aureus and Escherichia coli Isolated from Patients in a Teaching Hospital in Southern Minas Gerais*

Ana Paula Laranjeira Lima<sup>1</sup>  
Emília de Souza Barbosa Grosso<sup>1</sup>  
Gislene Ferreira<sup>2</sup>  
Mariléia Chaves Andrade<sup>3</sup>

1. Acadêmicas do 6º ano do Curso de Medicina da Faculdade de Medicina de Itajubá. FMI/Itajubá-MG.
2. Nutricionista. Mestre em Microbiologia Agrícola. Professora da Faculdade de Medicina de Itajubá. FMI/Itajubá-MG.
3. Bióloga. Doutora em imunologia. Professora das disciplinas Microbiologia, Parasitologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Itajubá. FMI/Itajubá-MG.

Trabalho desenvolvido na Faculdade de Medicina de Itajubá - FMI

Recebido em maio de 2014

Aceito em junho de 2014

#### Correspondência:

Ana Paula Laranjeira Lima  
Rua Vital Brasil 456  
Bairro São Vicente- Itajubá-MG  
CEP: 37502-098  
Fone: (77) 34513052  
E-mail: [paulallima@hotmail.com](mailto:paulallima@hotmail.com)

#### RESUMO

**Objetivo:** Determinar a ação antimicrobiana do extrato bruto de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Materiais e Métodos:** Para obtenção do extrato bruto (EB) foram trituradas folhas frescas do alecrim e levadas ao percolador com solução alcóolica (etanol 96 GL) por 10/15min, sendo posteriormente filtradas e concentradas em estufa a 65°C, até a evaporação completa do álcool. Foram testadas 35 cepas de *Staphylococcus aureus* e 35 de *Escherichia coli* isoladas de pacientes internados no Hospital Escola de Itajubá pelo método de diluição em caldo pela técnica de microdiluição em placa. As concentrações testadas foram: 40; 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625 e 0,312mg/ml. **Resultados:** A inibição do crescimento de *S. aureus* foi diretamente proporcional à concentração do extrato: a concentração de 40mg inibiu 60% das cepas testadas; 20mg inibiu 48,57%, 10mg inibiu 14,28% e a concentração de 5mg mostrou 5,71% de inibição. As demais concentrações não apresentaram inibição. Para a *Escherichia coli*, apenas as concentrações de 40mg e 20mg do extrato apresentaram capacidade de inibição, com 37,14% e 5,71% das cepas inibidas, respectivamente. **Conclusão:** Houve uma correlação direta entre a concentração do extrato e o percentual de cepas inibidas, demonstrando que ambas as espécies são inibidas pelo extrato bruto da planta *Rosmarinus officinalis* L em maiores concentrações.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos. *Rosmarinus officinalis* L. Fitoterápicos.

#### ABSTRACT

**Objective:** To determine the antimicrobial action of the crude extract of *Rosmarinus officinalis* L. on strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Materials and methods:** In order to obtain the crude extract, fresh rosemary leaves were smashed, and taken to percolator with alcoholic solution (Ethanol 96GL) for 10/15min, being then filtered and concentrated in a incubator at 65° C until complete alcohol evaporation. 35 *Staphylococcus aureus* and 35 *Escherichia coli* strains isolated from patients in the University Hospital of Itajubá were tested by the method of broth dilution in the technique of plate microdilution. The concentrations tested were 40; 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; and 0,312mg/mL. **Results:** The inhibition of *S.aureus* growth was directly proportional to the concentration of the crude extract: the concentration of 40mg inhibited 60% of the tested strains; 20mg inhibited 48,57%, 10 mg inhibited 14,28% and the concentration of 5mg inhibited 5,71%. Other concentrations did not demonstrate inhibition capacity. For *Escherichia coli*, only 40mg and 20mg concentrations presented inhibition capacity, with 37,14% and 5,71 of strains inhibited. **Conclusion:** There is a direct correlation between crude extract concentration and the fraction of inhibited strains, showing that both species are inhibited by the crude extract of *Rosmarinus officinalis* L in higher concentrations.

**Keywords:** Antimicrobial. *Rosmarinus officinalis*. Phytotherapeutics

## INTRODUÇÃO

O uso terapêutico de plantas medicinais tem registro desde a antiguidade, pelas civilizações da China, Índia, Egito e Grécia. Existem evidências históricas e arqueológicas de que as propriedades curativas das plantas medicinais já eram conhecidas desde o período Neolítico (cerca de 10.000 anos atrás).<sup>1</sup>

Nos países em desenvolvimento, grande parte das doenças está relacionada com a falta de saneamento básico, desnutrição e dificuldade de acesso aos medicamentos. Neste contexto, a fitoterapia é amplamente praticada. Contudo, o uso popular tradicionalmente consolidado tem sido utilizado como guia para pesquisas farmacológicas.<sup>2</sup>

Com a evolução da ciência, intensificaram-se os estudos das plantas medicinais, relacionando a composição química destas com os seus efeitos, confirmando, muitas vezes, a sua utilização popular,<sup>3</sup> como por exemplo, o *Allium sativum* por suas propriedades terapêuticas como hipolipemiante, antiplaquetário, antitumoral e anti-infeccioso; o eucalipto (*Eucalyptus globulus labil*), que tem demonstrado atividade expectorante, fluidificante e antisséptica da secreção brônquica; o *Allium cepa L.*, que se destaca por possuir propriedades antimicrobianas, hipolipemiante, antitrombótica, antitumoral, hipoglicemiante e antialérgica em patologia bronquial e o *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. utilizado no combate às bronquites.<sup>4</sup>

Extratos e óleos essenciais de plantas mostraram-se eficientes no controle do crescimento de uma ampla variedade de microrganismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias,<sup>5</sup> sendo promissora a utilização destes óleos como aditivos

alimentares, para retardar a deterioração dos alimentos ou para evitar o crescimento de patógenos alimentares e microrganismos resistentes aos antibióticos.<sup>6</sup>

Ao longo das últimas décadas, desde a descoberta das penicilinas naturais, o avanço da indústria farmacêutica levou ao surgimento de diversos antimicrobianos, com espectro de ação cada vez mais amplo. Entretanto, a exposição aos antimicrobianos desencadeou resistência bacteriana, limitando as opções terapêuticas dos processos infecciosos. Nesta ótica, remete-se à questão das infecções hospitalares (nosocomiais)<sup>7</sup> associadas à Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), quimioterapia antineoplásica e transplantes.<sup>8</sup>

A problemática das Infecções Hospitalares ainda consiste em grande desafio para a saúde pública em todo o mundo. Estas infecções prolongam o tempo de internação, aumentam os custos hospitalares e as taxas de mortalidade, além de contribuírem para o sofrimento vivenciado pelo paciente e seus familiares.<sup>9</sup>

A redução das taxas de infecção pode contribuir para diminuição de problemas econômicos dos hospitais públicos e filantrópicos brasileiros, além de reduzir o tempo de internação dos pacientes, aumento da rotatividade dos leitos e a maior disponibilidade de vagas nas Unidades de Terapia Intensiva (UTIs).<sup>10</sup>

Várias espécies de bactérias já foram identificadas como causadoras de infecções, o que faz com que sejam alvos de grandes pesquisas. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* são exemplos de microrganismos amplamente estudados por sua patogenicidade, responsáveis por diversos tipos de infecções.<sup>11</sup>

A resistência a agentes antimicrobianos é grave e preocupante e requer não somente a pesquisa para o desenvolvimento de novas substâncias antimicrobianas, mas também o desenvolvimento de novas abordagens para o tratamento de infecções bacterianas. Logo, a busca de propriedades antibacterianas de extratos de plantas e de substâncias mais específicas tem sido incentivada e intensificada<sup>7</sup>

Popularmente, a *Rosmarinus officinalis* é conhecida como “alecrim”, alecrim-de-cheiro, alecrim das hortas, alecrim-da-casa, alecrim-comum, alecrim verdadeiro e rosmaninho. É utilizada no tratamento de afecções hepática, intestinal, renal e respiratória. Seu óleo essencial apresenta vários compostos, incluindo diterpenos fenólicos, carnosol e ácido carnosico, ácido rosmarínico e flavonoides.<sup>12</sup>

O alecrim, além de ser amplamente utilizado na área de cosméticos e agentes aromatizantes em alimentos, apresenta ação antibacteriana, citotóxica, antimutagênica, antioxidante, propriedades anti-inflamatórias e quimiopreventivas.<sup>13</sup>

Em estudo realizado por Valones em 2008 observou que o extrato de alecrim apresenta significativa capacidade de inibir o crescimento de bactérias bucais, como *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Lactobacillus casei*.<sup>14</sup>

Diante do exposto, este trabalho visou determinar a ação antimicrobiana do extrato bruto de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de pacientes de um Hospital Escola do sul de Minas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para obtenção do extrato bruto (EB) foram utilizadas 320 g de folhas frescas da

planta alecrim (*Rosmarinus officinalis*) que foram trituradas em *stomacker* e em seguida, levadas ao percolador com solução alcóolica (etanol 96 GL) por 10/15min. Posteriormente, foram filtradas em papel filtro Whatman nº 1 e a solução filtrada foi concentrada em estufa a 65°C, até a evaporação completa do álcool e obtenção do extrato bruto (EB).<sup>5,15</sup>

Foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de pacientes internados no Hospital Escola da Faculdade de Medicina de Itajubá (HE da FMI) no período de 2001 a 2007 e mantidas no Banco de Microrganismos do Laboratório de Microbiologia do referido hospital. As cepas foram provenientes de amostras de diversos sítios dos pacientes (urina, pele, corrente sanguínea, trato respiratório, trato genital, sítio cirúrgico e outros) nas diferentes unidades do HE da FMI (Pediatria, Clínica Particular, Ginecologia-Obstetrícia, Clínica Cirúrgica, Clínica Médica e Unidade de Terapia Intensiva). As informações sobre topografias foram obtidas do Banco de Dados do Laboratório de Microbiologia.

As 35 cepas de *S. aureus* e as 35 cepas *E. coli* analisadas encontravam-se em microtubos rosqueados em solução salina (0,85%) contendo caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) e mantidas sob refrigeração (entre 4°C e 8°C). Para o preparo do inóculo, as amostras foram cultivadas em placas de Petri contendo Ágar nutriente e incubadas à 37°C, por 24-48 horas. A suspensão inicial do inóculo foi preparada em 5mL de salina esterilizada a 0,85%.

Após homogeneização da suspensão no agitador de tubos, a concentração do inóculo foi verificada através da aferição da turbidez, empregando o cartão de Wickermam até atingir

3+ (quando ocorre o desaparecimento das linhas), o que corresponde à escala 0,5 de McFarland de modo a fornecer um inóculo de  $10^8$  UFC/ml.<sup>5,16</sup>

As amostras de *S. aureus* e *E. coli* foram testadas pelo método de diluição em caldo pela técnica de microdiluição, no qual se

utilizam microplacas com 96 poços, que contém colunas numeradas de 1 a 12 e linhas identificadas de A a H (Figura 1). A metodologia utilizada neste trabalho foi adaptada de Costa LM e Moura CL,<sup>15,16</sup> visando adequar os materiais disponíveis para o estudo.

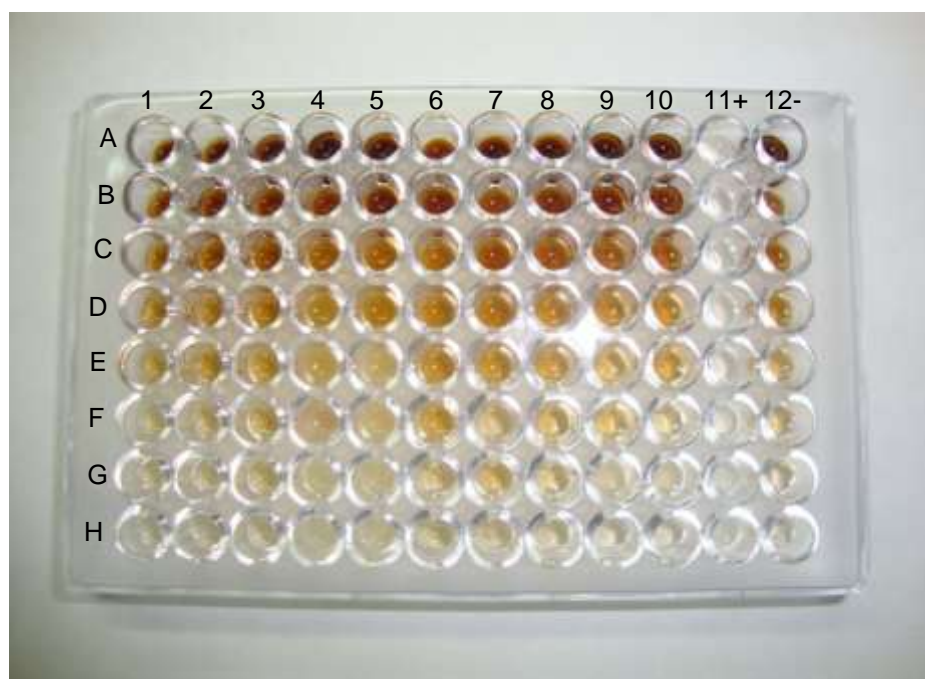


Figura 1 – Microplacas contendo 96 poços, cujas colunas são distribuídas do número 1 ao 12 e linhas identificadas de A a H.

Inicialmente, foi colocado em todos os poços da primeira fileira horizontal (linha A de 1 a 10), 200  $\mu$ L do Extrato Bruto (EB) de *Rosmarinus officinalis* L., preparado inicialmente na concentração de 40mg/ml. Em seguida, colocou-se nas linhas B até H, 100  $\mu$ L de caldo Müller-Hinton (M.H), em todas as colunas de 1 a 10. Uma alíquota de 100  $\mu$ L do (EB) do poço A1 foi homogeneizada e posteriormente transferida para o poço seguinte (B1), correspondente à próxima concentração. Repetiu-se a diluição até o poço (H1) e descartaram-se os 100  $\mu$ L restantes, ocorrendo uma diluição seriada. O mesmo procedimento

foi realizado nos demais poços de microdiluição em todas as colunas.

A coluna de número 11 foi o controle positivo (100  $\mu$ L de caldo Muller-Hinton + 10  $\mu$ L cepa bacteriana) e o controle negativo, a coluna de número 12 (100  $\mu$ L de caldo Muller-Hinton + Extrato Bruto de *Rosmarinus officinalis* L).

As microdiluições foram feitas nas seguintes concentrações: 40; 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625 e 0,312 mg/ml.

Em seguida, 10  $\mu$ L de cada cepa de bactéria diluída em solução salina estéril foram adicionados nos poços de diluição, que foram armazenados em estufa a 37°C, por 24 horas.

Cada coluna numerada de 1 a 10 na placa correspondia a uma cepa da bactéria sendo, portanto, utilizadas 3 placas e meia, totalizando 35 cepas.

Após o período de incubação, a leitura das placas foi realizada com auxílio do revelador Cloreto de Trifenil Tetrazólio (TTC) 0,5%, que indica crescimento microbiano. Para isto, colocou-se 10 µL do revelador (TTC) 0,5% em todos os poços, homogeneizando-os e em seguida, as microplacas foram reincubadas em

estufa microbiológica de 35°C, por um período de 3 horas. Após este período, as microplacas foram observadas e analisadas. A ausência de cor nos poços foi interpretada como microrganismo sensível ao extrato testado (ausência de crescimento microbiano) e os poços de coloração avermelhada foram interpretados como microrganismos resistentes (presença de crescimento microbiano) (Figura 2).<sup>15,16</sup>

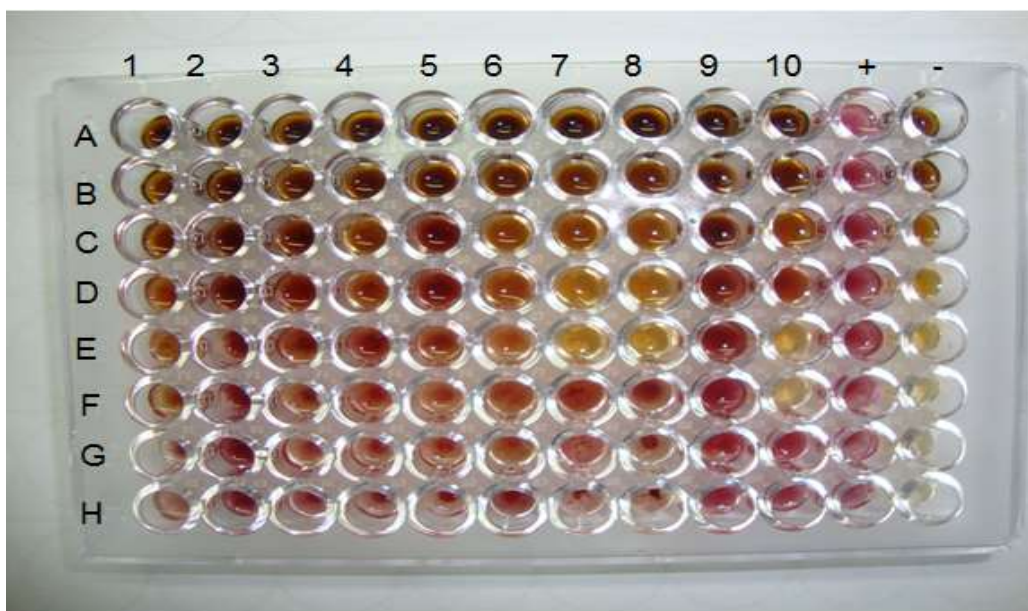


Figura 2 - Poços de microdiluição após utilizar o revelador Cloreto de Trifenil Tetrazólio

Os resultados dos ensaios biológicos pelo método da microdiluição foram submetidos à análise estatística pelo teste de Kruskal-Wallis (análise de variância não-paramétrica), visando comparar as diferentes concentrações na inibição das bactérias, sendo considerada significativa quando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Foram analisadas 35 cepas de *Staphylococcus aureus*, frente a diferentes

concentrações do extrato bruto de *Rosmarinus officinalis* L, resultando em um total de 280 amostras avaliadas.

O perfil de inibição do crescimento de *S. aureus* foi diretamente proporcional à concentração do extrato: a concentração de 40mg foi capaz de inibir 60% das cepas testadas; a concentração de 20mg inibiu 48,57%, a de 10mg inibiu 14,28% e a concentração de 5mg mostrou 5,71% de inibição. As concentrações de 2,5mg, 1,25mg, 0,625mg e 0,312mg de *Rosmarinus officinalis*

L. não apresentaram nenhuma inibição frente às cepas *Staphylococcus aureus* (Figura 3).

Quando analisadas estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis, apenas as

concentrações de 40 e 20 mg, mostraram ser eficientes na inibição de *S. aureus*, com  $p < 0,05$ .

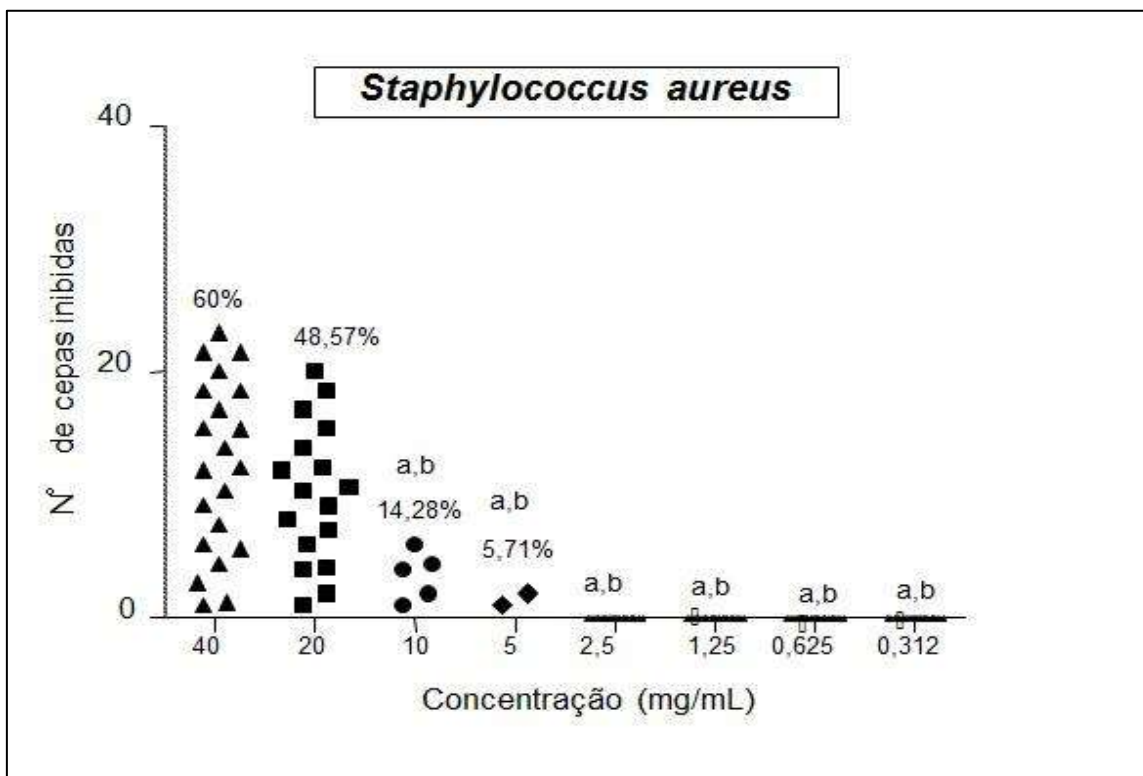


Figura 3 – Atividade antimicrobiana do *Rosmarinus officinalis* L. sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. A letra A representa a diferença estatisticamente significativa comparada com a concentração de 40mg e a letra B representa a diferença estatisticamente significativa comparada com a concentração de 20mg.

O perfil de inibição do crescimento de *Escherichia coli* também mostrou uma correlação direta entre a concentração do extrato e o percentual de cepas inibidas: concentração de 40mg foi capaz de inibir 37,14% das cepas testadas e a concentração de 20mg inibiu 5,71%

das cepas. As concentrações de 10mg, 5mg, 2,5mg, 1,25mg, 0,625mg e 0,312 mg de *Rosmarinus officinalis* L. não apresentaram nenhuma inibição frente às cepas de *Escherichia coli* (Figura 4).

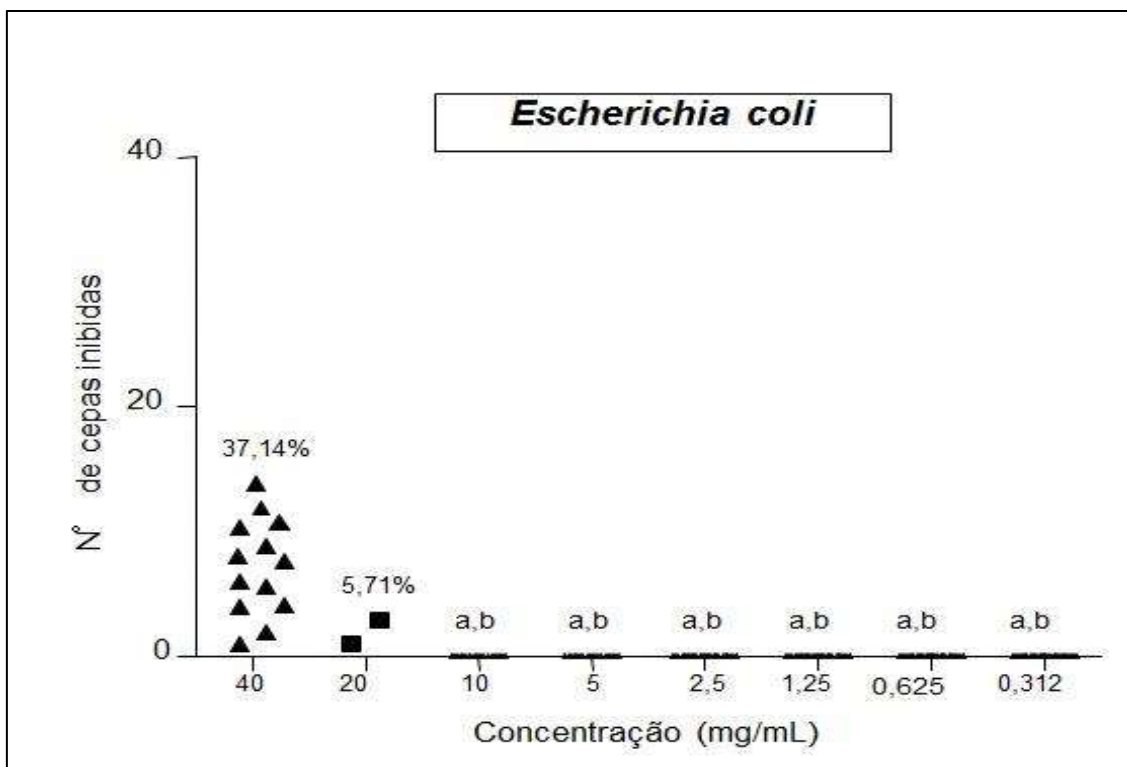


Figura 4 – Atividade antimicrobiana do *Rosmarinus officinalis* L. sobre cepas de *Escherichia coli* (n=35). A letra A representa a diferença estatisticamente significativa comparada com a concentração de 40mg e a letra B representa a diferença estatisticamente significativa comparada com a concentração de 20mg.

Na análise estatística, apenas as concentrações de 40 e 20mg, mostraram ser eficientes na inibição de *E. coli*, com  $p < 0,05$ .

## DISCUSSÃO

O século XXI revela um novo cenário no cuidado à saúde como consequência do avanço científico e tecnológico. Novos microrganismos têm sido documentados e as infecções têm ressurgido como nova força, especialmente nos centros de terapia intensiva. Infecções hospitalares (IH) são consideradas mais graves nessas unidades de alta complexidade tecnológica, que atendem pacientes graves, dependentes de suporte intensivo de vida.<sup>17</sup>

O abuso por longos anos da utilização de compostos antimicrobianos se apresenta como fator principal para o surgimento do

fenômeno de resistência. Várias medidas tecnológicas são sugeridas para resolver o problema da resistência das bactérias, sendo uma delas a procura de novos antimicrobianos a partir de espécies vegetais.<sup>11</sup>

Os produtos naturais são responsáveis direta ou indiretamente por cerca de 40% de todos os fármacos disponíveis na terapêutica atual e, se for considerado aqueles usados como antibióticos e antitumorais, esta porcentagem chega a aproximadamente 70%.<sup>3</sup>

Entre esses produtos naturais está o *Rosmarinus officinalis* Linn., que possui em sua composição flavonoides, fenóis, óleos voláteis e terpenoides. Cada um destes componentes apresenta uma função, o que caracteriza o vegetal em foco como planta medicinal. Seu extrato apresenta alta atividade antimicrobiana e antioxidante, provavelmente devido à presença de compostos fenólicos em

sua composição. Essas propriedades ocorrem naturalmente, não só no processamento de alimentos, mas também, em misturas funcionais formuladas para uso farmacêutico.<sup>14</sup>

Estudo sobre a avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais mostrou que as amostras de *S. aureus* apresentaram sensibilidade frente às diferentes concentrações dos extratos alcóolico, cetônico e clorofórmico. No extrato alcóolico apresentou atividade inibitória nas concentrações de 50% e 10%, no extrato cetônico, nas concentrações de 50%, 10% e 5% e o extrato clorofórmico apresentou o maior halo de inibição ( $20,0 \pm 1,4\text{mm}$ ) na concentração de 50%. No presente trabalho foi testado apenas o extrato bruto alcóolico, que também mostrou inibição apenas nas maiores concentrações.<sup>11</sup>

Outro estudo mostrou que o extrato alcóolico do alecrim apresentou atividade antimicrobiana satisfatória sobre as bactérias da cavidade bucal, *S. mutans*, *S. aureus* e *L. casei*, envolvidas na gênese e progressão de patologias, como a cárie.<sup>14</sup>

Estudo mostrou que *E. coli* não foi inibida com extratos hexânicos, clorofórmico e cetônico, corroborando com a literatura que relata que as bactérias Gram positivas, como *S. aureus*, geralmente são mais sensíveis aos antibióticos, que bactérias Gram negativas, como *E. coli* e *P. aeruginosa*, embora alguns antibióticos atuem apenas em bactérias Gram negativas;<sup>11</sup> resultado diferente do observado no presente estudo, que apesar de ter utilizado apenas o extrato alcóolico, observou inibição da bactéria *E. coli*, embora em menor grau que o *S. aureus*.

Estudo sobre atividade antimicrobiana e antiaderente *in vitro* do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. sobre bactérias orais comprovou a eficácia do extrato hidroalcóolico de alecrim sobre cepas de *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus casei*. Sugerindo que o extrato de alecrim possui compostos bioativos com atividade antimicrobiana *in vitro* sobre as cepas estudadas.<sup>18</sup>

O efeito sinérgico da associação de antibióticos com extratos de plantas contra bactérias resistentes induz a novas chances de tratamento de doenças infecciosas.<sup>14</sup>

Entre todos os microrganismos testados no trabalho de Del-Campo *et al.* citado por Valone e cols. em 2008, as bactérias gram-positivas revelaram-se as mais sensíveis ao extrato de alecrim,<sup>14</sup> corroborando com o presente estudo.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos, tanto para *S. aureus*, quanto para *E. coli* foram positivos, porém apresentando uma correlação direta entre a concentração do extrato e o percentual de cepas inibidas, demonstrando que ambas as espécies são inibidas pelo extrato bruto da planta *Rosmarinus officinalis* L em maiores concentrações.

O estudo evidenciou que *Staphylococcus aureus* foi mais susceptível que *Escherichia coli* à atividade inibitória do *Rosmarinus officinallis* L, em decorrência do número de amostras inibidas.



## REFERÊNCIAS

1. Alves LF. Produção de fitoterápicos no Brasil: história, problemas e perspectivas. *Rev Virtual Quim.* 2013;5(3):450-513.
2. Michelin DC, Moreschi PE, Lima AC, Nascimento GGF, Paganelli MO, Chaud MV. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Rev Bras Farmacogn.* 2005;15(4):316-20.
3. Cavalcante GM, Neto JFL, Bonfim EO, Santos MF. Atividade antimicrobiana de *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Moraceae) sobre o desenvolvimento de *Streptococcus pneumoniae* e *Escherichia coli*. *Rev Scientia plena.* 2013;9(2):1-7.
4. Tôrres AR, Oliveira RAG, Diniz MMFM, Araújo EC. Estudo sobre o uso de plantas medicinais em crianças hospitalizadas da cidade de João Pessoa: riscos e benefícios. *Rev Bras Farmacogn.* 2005;15(4):373-80.
5. Santos RLA. Investigação da atividade antimicrobiana do *Ocimum basilicum* (Manjerição) sobre *Staphylococcus aureus*. *Rev Cienc Saúde.* 2011;3(1):33-42
6. Santos TG, Rebelo RA, Dalmarco EM, Guedes A, Gasper AL, Cruz AB, *et al.* Composição Química e avaliação e da atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Piper malacophyllum* (C. PRESL.) C. DC. *Rev Quim Nova.* 2012; 35(3):477-81.
7. Cunico MM, Carvalho JLS, Kerber VA, Higaskino CEK, Cruz Almeida SC, Miguel MD, *et al.* Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico de raízes e partes aéreas de *Ottonia martiana* Miq.(Piperaceae). *Rev Bras Farmacogn.* 2004;14(2):97-103.
8. Elissa A, Ostrosky, Mizumoto MK, Lima MEL, Kaneko TM, Nishikawa SO, Freitas BR. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Rev Bras Farmacogn.* 2008;18(2):301-07.
9. Secretaria de Saúde Estado de São Paulo [Internet]. Controle de vigilância epidemiológica. Infecções Relacionadas a serviços de saúde: orientação para público em geral. Conhecendo um pouco mais sobre infecção. [Acesso em: 2013 Jan 24]. Disponível em: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/hm/ih/pdf/IRAS12\\_pub\\_geral.pdf](http://www.cve.saude.sp.gov.br/hm/ih/pdf/IRAS12_pub_geral.pdf)
10. Nangino GO, Oliveira CD, Correia PC, Machado NM, Dias ATB. Impacto financeiro das infecções nosocomiais em unidades de terapia intensiva em hospital filantrópico de Minas Gerais. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2012;24(4):357-61.
11. Haida K, Parzianello L, Werner S, Garcia DR, Inácio CV. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. *Arq Cienc Saúde Unipar.* 2007;11(3):185-92.
12. Silva MTN, Ushimaru PI, Barbosa LN, Cunha MLRS, Fernandes Junior A. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. *Rev Bras Plantas Med.* 2009;11(3):257-62.
13. Hussain AI, Anwar F, ChathaI SAS, Jabbar A, MahboobIII S, Nigam PS. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Braz J Microbiol.* 2010;41(4):1070-8.
14. Valones MAA. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do dentifício à base do extrato alcoólico de *Rosmarinus officinalis* Linn. (alecrim) sobre cepas padrão de *S. mutans*, *S. aureus* e *L. casei* [Dissertação]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco – UFPE; 2008.
15. Costa LM. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana do Gênero *Capsicum* [Dissertação]. Chapecó (SC): Universidade Comunitária Regional de Chapecó – UNOCHAPECÓ; 2007.
16. Moura CL. Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos brutos das espécies vegetais *Miconia rubiginosa* e *Pfaffia glomerata* em microrganismos da cavidade bucal [Dissertação] Franca (SP): Universidade de Franca; 2006.
17. Oliveira AC, Kovner CT, Silva RS. Infecção hospitalar em unidade de tratamento intensivo de um hospital universitário brasileiro. *Rev Latino-Am Enf.* 2010;18(2):233-9.
18. Silva MSA, Silva MAR, Higino JS, Pereira MSV, Carvalho AAT. Atividade antimicrobiana e antiaderente in vitro do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. sobre bactérias orais planctônicas. *Rev Bras Farmacogn.* 2008;18(

**Correspondência:** Ana Paula Laranjeira Lima Rua Vital Brasil 456 Bairro São Vicente- Itajubá-MG CEP: 37502-098 Fone:77 34513052 E-mail: paulallima@hotmail.com