



### Investigação da Atividade Antimicrobiana do *Ocimum basilicum* (Manjeriçã) sobre *Staphylococcus aureus* *Investigation of the Ocimum basilicum* *Antimicrobial Activity on Staphylococcus aureus*

Robson Luís Assunção dos Santos<sup>1</sup>  
Marcell Ninis Wolff Barreiros<sup>1</sup>  
Mariléia Chaves Andrade<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Acadêmicos do Programa de Desenvolvimento de Iniciação Científica do 6º ano do Curso de Medicina da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMIIt) – Itajubá/MG

<sup>2</sup> Doutora em Imunologia pela Universidade Federal de Minas Gerais, Professora das disciplinas de Microbiologia, Parasitologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMIIt) – Itajubá/MG

Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de Itajubá – FMIIt

Apoio financeiro PDIC (Programa de Desenvolvimento de Iniciação Científica da Fmit).

#### Correspondência:

Robson Luís Assunção Dos Santos  
Faculdade de Medicina de Itajubá  
Avenida Getúlio Vargas, 400  
CEP: 37115-000 Monte Belo MG, Brasil  
E-mail: robinhoassuncao@hotmail.com

#### RESUMO

**Objetivo:** Investigar a atividade antimicrobiana do *Ocimum basilicum* (manjeriçã) sobre o microrganismo *Staphylococcus aureus*. **Materiais e Métodos:** As cepas de *S. aureus* foram obtidas do Banco de Microrganismos do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de Itajubá e o teste de observação de ausência ou presença de crescimento das amostras nas placas foi realizado pelo método preconizado pelo CLSI (M7-A6). Foram analisadas 70 cepas de *S. aureus* pelo método de Kirby-Bauer para diferentes concentrações de extratos de manjeriçã (10, 20, 30, 40 e 50%), nos dois tipos de extratos (Extrato Alcoólico e Extrato Bruto). **Resultados:** Houve inibição de crescimento do *S. aureus* de 41,4% para o Extrato Alcoólico (EA) na concentração a 10%; 87,1% de inibição na concentração de 20%; 92,86% de inibição para EA a 30% e 100% para os extratos alcoólicos a 40 e 50%. Com relação aos extratos brutos (EB), obteve-se uma inibição de crescimento do *S. aureus* de 42,9% para o EB a 10%; 94,3% de inibição para EB a 20 e 30% e 100% de inibição para os Extratos Brutos a 40 e 50%. Ainda, das 70 amostras analisadas, 49 (70%) eram *Staphylococcus aureus* resistentes à Meticilina (MRSA), e destas, 15 (30,6%) foram inibidas por Extrato Alcoólico e Extrato Bruto a 10%. **Conclusão:** Embora os resultados obtidos tenham sido satisfatórios, estudos posteriores fazem-se necessários, no intuito de obter-se o constituinte ativo presente no extrato do *Ocimum basilicum* (Manjeriçã).

**Palavras Chave:** Infecções hospitalares, *Staphylococcus aureus*, Manjeriçã.

#### ABSTRACT

**Objective:** Investigation of the antimicrobial activity of *Ocimum basilicum* (basil) on *Staphylococcus aureus*. **Materials and methods:** The data for topographic analysis were obtained in the Microbiology Laboratory Database and the observation test for absence or presence of growth of samples on plates was carried out by the recommended method by CLSI (M7-A6). **Results:** From those 70 viable strains of *S. aureus* isolated in this period, the Kirby-Bauer method for different concentrations (10, 20, 30, 40 and 50%) of two types of extracts (EA and EB) showed an inhibition of 41,4% for the EA10%, 87,1% for the EA20%, 92,86% for the EA30% and 100% for the EA at 40 and 50%. On the other hand, an inhibition of 42,9% was obtained for the EB10%, 94,3% for the EB at 20 and 30% and 100% for the EB at 40 and 50%. Besides from those 70 analysed samples, 49 were *Staphylococcus aureus* resistant to Methicillin (MRSA), from which 15 (30,6%) were inhibited by EA and EB at 10%. **Conclusion:** although the obtained results have been satisfactory further studies are necessary in order to find the active principles in the *Ocimum basilicum* (basil) extract.

**Key words:** Hospital infections; *Staphylococcus aureus*, Basil.

## INTRODUÇÃO

A evidência mais remota de seres humanos fazendo uso farmacológico de plantas, data do período Neanderthal, mas seu cultivo específico data do século XVI, período no qual jardins botânicos foram criados para cultivo de plantas medicinais, para a prática médica em escolas de medicina.<sup>1</sup>

As vendas de plantas medicinais crescem 20% ao ano, e as ervas apresentam a área de maior crescimento na farmácia de varejo, excedendo o crescimento da droga convencional. Pacientes crônicos portadores de doenças como, diabetes, câncer, artrite ou incuráveis, como AIDS, fazem maior uso de plantas, por acreditarem que a medicina convencional falhou.<sup>2</sup>

Os produtos naturais da planta são percebidos como sendo mais saudáveis, do que medicamentos manufaturados. Adicionalmente, os relatos dos efeitos adversos de medicamentos convencionais são veiculados na imprensa em uma taxa muito mais elevada, do que relatórios de toxicidade herbária, em parte porque a análise dos efeitos adversos é mais comum para medicina convencional, do que para a medicina alternativa fitoterápica.<sup>3</sup>

Além de participarem como ingredientes de inúmeros alimentos, tornando-os mais saborosos e digestivos, apresentam ação indireta e complementar como agentes antimicrobianos, devido à presença de óleos essenciais. Esses são constituídos por princípios ativos voláteis, que podem ser obtidos mediante métodos de extração.<sup>4</sup>

As substâncias químicas dos óleos essenciais apresentam compostos capazes de inibir direta ou indiretamente os sistemas enzimáticos bacterianos, mesmo que a maioria de microrganismos seja ainda desconhecida.

Seu comportamento é semelhante ao dos antibióticos, e a caracterização da célula “alvo” é decisiva para essa aplicação.<sup>5</sup>

Grande número de pesquisas citam as propriedades antibacterianas e antifúngicas das especiarias *in natura*, seus óleos essenciais e seus extratos. Várias plantas usadas para aromatizar alimentos são apontadas, por apresentarem atividade antimicrobiana como, louro, manjerona, manjeriço, cravo, canela, coentro, melissa, limão, laranja, alecrim, menta, alho, curry, mostarda, gengibre, entre outras. As especiarias e seus derivados assumiram relevante importância para serem usados como potenciais agentes inibitórios de microrganismos.<sup>5,6</sup>

Por outro lado, os microrganismos que causam prejuízos à saúde humana estão se mostrando resistentes à maioria dos antimicrobianos conhecidos, o que incentiva ainda mais a procura por antibióticos de origem natural. 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>

Os óleos essenciais de manjeriço (*Ocimum basilicum*), cravo da Índia, tomilho e alecrim já tiveram seu poder antimicrobiano testado em *Listeria monocytogenes* e outros microrganismos patogênicos.<sup>5</sup>

A primeira notificação das patologias ocasionadas por *Staphylococcus aureus* foi em 1941, cuja mortalidade atingiu 82% em um Hospital de Boston.<sup>7</sup> As doenças causadas por *S. aureus* podem ser provocadas pela bacteremia primária, invasão direta de tecidos ou por ação de toxinas que ele produz. As infecções estafilocócicas podem localizar-se em um ou

múltiplos órgãos e tecidos, podendo ser leve, moderada ou grave.<sup>8</sup>

Ao longo dos anos, os *S. aureus* têm provocado ciclos de focos nos hospitais e na comunidade e desenvolveram resistência à maioria dos antibióticos utilizados.<sup>9</sup> Hoje em dia, a mortalidade de bacteremias provocadas pelos *S. aureus* permanece aproximadamente entre 20% a 40%, apesar da disponibilidade de antimicrobianos eficazes. *Staphylococcus aureus* é agora o líder global de infecções nosocomiais.<sup>10</sup>

Uma vez que as plantas medicinais produzem uma variedade de substâncias com propriedades antimicrobianas, é esperado que programas de triagem possam descobrir compostos para o desenvolvimento de novos antimicrobianos. Entretanto, as investigações científicas visando determinar o potencial terapêutico das plantas são limitadas, existindo a falta de estudos experimentais que confirmem as possíveis propriedades antimicrobianas de

um grande número de plantas.<sup>11</sup> Sendo assim, este estudo visou investigar a atividade antimicrobiana do *Ocimum basilicum* (manjeriçã) sobre *Staphylococcus aureus*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Preparo dos Extratos

O óleo essencial de manjeriçã foi obtido por arraste com vapor de água (Figura 1), a partir de folhas secas ao ar. Para a obtenção do extrato bruto (EB), foram utilizadas folhas frescas da planta manjeriçã (*Ocimum basilicum*). As folhas (100 g), após secagem, foram pulverizadas em gel com pistilo. Após a pulverização, foi feita a infusão em água destilada até a exaustão completa. O EB obtido foi filtrado primeiro em gaze e em seguida, no papel de filtro Whatman nº 1. O filtrado foi evaporado, obtendo-se então, o EB. O EB seco final foi armazenado em frasco estéril, etiquetado e mantido a  $-20^{\circ}\text{C}$ .<sup>5,12</sup> (Figura 1)



Figura 1 – Obtenção de extrato de manjeriçã por arraste com vapor de água<sup>11</sup>

O extrato alcoólico foi obtido separando-se a parte oleosa da alcoólica, por associação com óleo mineral, por meio do equipamento

percolador, sendo então denominado de extrato alcoólico (EA) (Figura 2)

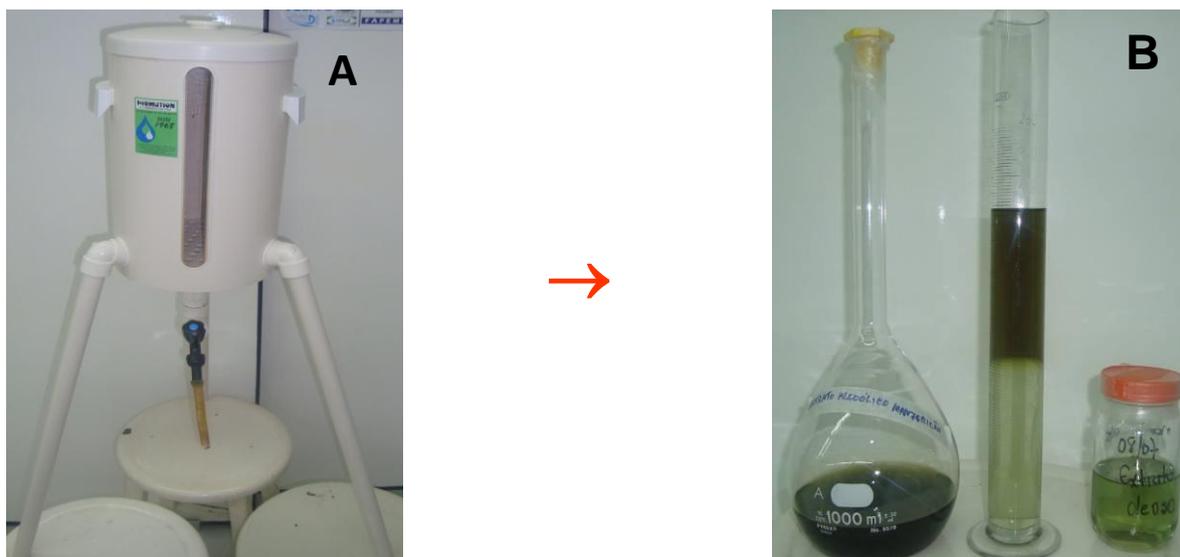


Figura 2 – Determinação do extrato alcoólico. (A) Foto ilustrativa do percolador; (B) Formação do extrato alcoólico, pela separação da fração oleosa

O meio empregado na técnica de macro-diluição foi o caldo Müeller-Hinton, adicionado com 4% de cloreto de sódio. Em cada novo ensaio, alíquotas de 2mL do meio líquido foram incubadas nas mesmas condições do teste, para controle de esterilidade.<sup>8</sup>

As cepas de *S. aureus* 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 ágar Nutriente e incubadas à 37°C por 24-48 horas. A suspensão inicial do inóculo foi preparada em 5mL de salina a 0,85% esterilizada.

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<sup>+</sup> (quando ocorre o desaparecimento das linhas), que corresponde à escala 0,5 de McFarland.

A suspensão foi diluída a 1:50 em caldo Müeller-Hinton (0,2mL da suspensão para 9,8mL de caldo Müeller-Hinton) para obter  $10^6 \times 1/50 = 2 \times 10^4$  células/mL. Nos tubos da macro-diluição, a diluição foi de 1:2, sendo que ao final do experimento, a diluição final atingiu  $2 \times 10^4 \times 1/2 = 1 \times 10^4$  células/mL<sup>8</sup> (Figura 3).

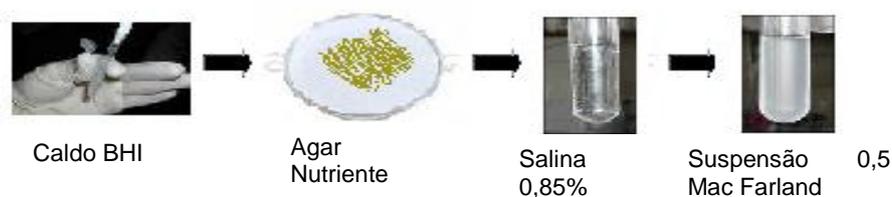


Figura 3 - Preparação do inóculo

### Amostras

As 70 cepas de *Staphylococcus aureus* utilizadas nos testes foram obtidas no laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de Itajubá. A identificação das mesmas foi realizada, empregando os testes clássicos de produção das enzimas coagulase

livre e ligada<sup>13</sup> e utilização do manitol.<sup>14</sup> (Figura 4).

Antes de serem submetidas ao teste de CIM, as amostras foram enriquecidas em caldo BHI (Brain Heart Infusion) e incubadas em estufa microbiológica, por 24 horas a 37°C.



Figura 4 - Testes bioquímicos e enzimáticos usados na identificação de *S. aureus*

### Teste de sensibilidade

A metodologia empregada na determinação da sensibilidade de amostras de *S. aureus* frente ao EB de *Ocimum basilicum* (manjeriço), foi o método de Difusão em Disco, também conhecido como método de Kirby-Bauer, utilizando placa de Petri, contendo Ágar Muller-Hinton.<sup>8</sup>

No preparo dos discos de papel filtro contendo extrato de *Ocimum basilicum* (manjeriço), foi utilizado papel de filtro Whatman número 1, com 6mm de diâmetro, cortado com o auxílio de um furador de escritório. Após serem cortados, os discos foram esterilizados dentro de placas de Petri em autoclave a 121°C, por 15 minutos e secos em estufa de secagem. Após a secagem, os discos foram embebidos com EB de *Ocimum basilicum* (manjeriço) e secos novamente em estufa microbiológica a 25°C, por 24 horas.<sup>8,15</sup>

As amostras de *Staphylococcus aureus* foram inoculadas em placas de Petri, contendo Ágar nutriente, e incubadas à 37°C, por 24hs em estufa microbiológica. Posteriormente, foi realizada uma suspensão com colônias

bacterianas empregando salina (0,85%) previamente esterilizada, com turvação 0,5, de acordo com a escala de Mac Farland.<sup>8,15</sup>

Para cada amostra de *S. aureus* foi utilizada uma placa de Petri contendo Ágar Muller-Hinton. A placa foi dividida em três partes iguais, e em seguida, inoculada a suspensão bacteriana com auxílio de “swab” de alginato de cálcio esterilizado. O “swab” foi esgotado em toda a placa, empregando movimentos rotatórios, a fim de assegurar a distribuição uniforme do inóculo.<sup>8,15</sup>

Em cada divisão da placa de Ágar Muller-Hinton, um disco de papel filtro previamente impregnado com EB de *Ocimum basilicum* (manjeriço) foi depositado, totalizando então, 3 discos por amostra. O disco foi pressionado de encontro à placa para assegurar adesão completa, com a superfície do meio de cultura. Foi tomado cuidado para o distanciamento correto entre os discos. As placas foram invertidas e incubadas a 37°C, por 24 horas em estufa microbiológica.<sup>15</sup>

Após 24 horas de incubação, as placas foram examinadas. Nas placas cujo inóculo e

semeadura foram realizados de maneira satisfatória, os halos apresentaram-se circulares e houve um tapete confluyente de crescimento. Os diâmetros dos halos de inibição foram medidos em milímetros, com auxílio de um halômetro que foi apoiado na parte de trás da placa de Petri invertida. O halo de inibição considerado foi a área sem crescimento detectável a olho nu (Figura 5).<sup>6</sup> Para a interpretação dos resultados obtidos, foi empregado o princípio de Arora e Kaur,<sup>16</sup> que

sugerem que o tamanho do halo de inibição indica maior ou menor suscetibilidade dos microrganismos frente às substâncias inibidoras e classificam os halos de inibição com base no tamanho do diâmetro, sendo os valores menores que 7mm considerados não-ativos contra os microrganismos Gram positivos testados (cepas de *S. aureus*). Os halos de inibição de 12mm de diâmetro ou maiores, foram considerados como os de melhor efeito inibitório provocado pelo óleo essencial testado.



Figura 5 – Halo de inibição.<sup>6</sup>

## RESULTADOS

Os extratos alcoólico (EA) e bruto (EB) a 10% apresentaram-se mais efetivos em *E. coli* (72%), do que em *S. aureus* (41,4% e 57,1%, respectivamente).

A inibição de crescimento dos *S. aureus* foi de 41,4% para o EA 10%, 87,1% para o EA

20%, 92,86% para o EA 30% e 100% para os EA de 40 e 50%. Por outro lado, o EB apresentou maior atividade antimicrobiana do que EA, com inibição de 57,1% para o EB 10%, 94,3% para os EB a 20 e 30% e 100% para os EB a 40 e 50%, sobre *S. aureus*, embora não haja diferença estatisticamente significante entre eles. (Tabela 1)

Tabela 1– Distribuição do número de amostras de *S. aureus* e *E. coli* e as porcentagens de inibição pelos diferentes tipos de extratos de manjericão, em variadas concentrações.

Microrganismos	<i>S. aureus</i> (n = 70)	<i>E. coli</i> (n = 25)	<i>S. aureus</i> (n = 70)	<i>E. coli</i> (n = 25)
Partes do Extrato	EB		EA	
% [ ]	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
10	40 (57,1)	18 (72)	29 (41,4)	18 (72)
20	36 (94,3)	25 (100)	61 (87,1)	25 (100)
30	36 (94,3)	25 (100)	65 (92,86)	25 (100)
40	70 (100)	25 (100)	70 (100)	25 (100)
50	70 (100)	25 (100)	70 (100)	25 (100)

n = NÚMERO DE AMOSTRAS ANALISADAS  
EB = EXTRATO BRUTO (LÍQUIDO)

[ ] = CONCENTRAÇÃO  
EA = EXTRATO ALCOÓLICO

Das 70 amostras analisadas, 49 eram *Staphylococcus aureus* resistentes à Meticilina (MRSA), as quais 15 destas (30,6%), foram inibidas por EA e EB a 10%. Tais efeitos tornaram-se perceptíveis através do surgimento

do halo de inibição de crescimento do microrganismo semeado em meio Ágar Muller-Hinton, a uma concentração de 0,5 da escala de Mac Farland (Figuras 6 e 7).

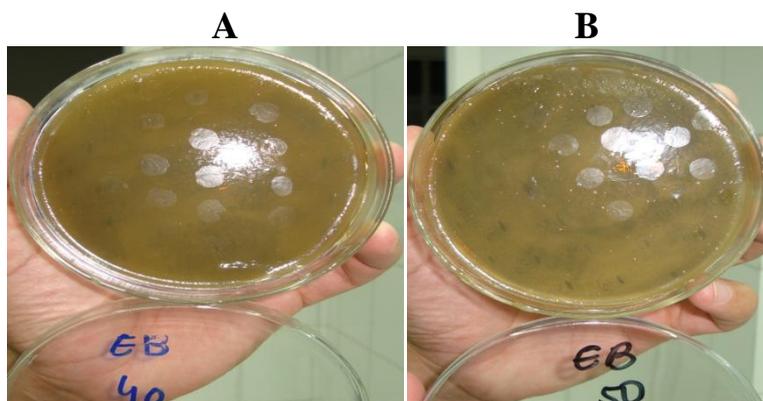


Figura 6 - Placas de Petri contendo amostras de *Staphylococcus aureus* semeadas em Ágar Müller-Hinton, com Extrato Bruto líquido (EB). (A) EB a 40%; (B) EB a 50%.

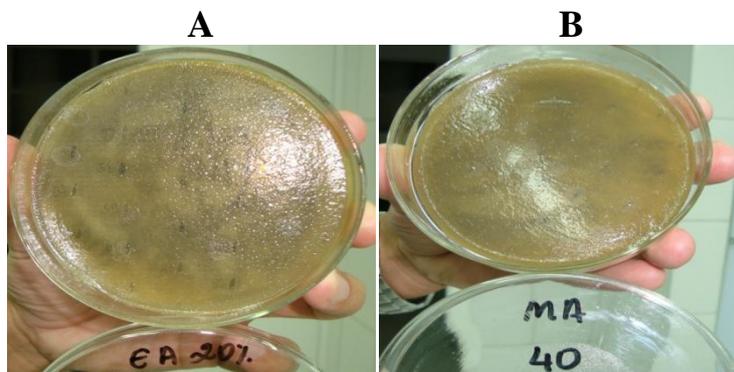


Figura 7 - Placas de Petri contendo amostras de *Staphylococcus aureus* semeadas em Ágar Müller-Hinton, com Extrato Alcoólico (EA). (A) EA a 20% (B) EA a 40%.

## DISCUSSÃO

Para se prescrever um antimicrobiano é necessário determinar previamente se a amostra bacteriana - responsável pela infecção - é sensível ou resistente. Esta informação é muito importante, principalmente com relação às espécies bacterianas que englobam muitas amostras resistentes, como os estafilococos e as enterobactérias. Uma bactéria é considerada sensível a um antimicrobiano quando o seu crescimento é inibido “in vitro” por uma concentração três ou mais vezes inferior àquela que o antimicrobiano atinge no sangue.

Se a concentração inibitória “in vitro” é igual ou superior àquela que o antimicrobiano atinge no sangue, a bactéria é considerada resistente. A bactéria moderadamente resistente é aquela cujo crescimento é inibido por concentrações intermediárias.<sup>17</sup>

Sendo assim, a variação de 57,1 a 100% de inibição das bactérias pelo extrato bruto de manjerição e 41,4 a 100% pelo extrato alcoólico, superaram os dados obtidos por Oliveira e cols. em 2008, a qual foi de 30%.<sup>26</sup> Por outro lado, tal inibição se aproxima daquela apresentada por Wan e cols. em 1998, que obtiveram 83,33% de inibição de microrganismos em geral (bactérias, leveduras e bolores).

De acordo com a literatura citada, os resultados obtidos neste estudo comprovam a teoria de Stangarlin e cols. de que óleos essenciais de plantas nativas exercem atividades antimicrobianas, justificando assim, o aumento nas vendas e uso de fitoterápicos.<sup>11</sup>

As vendas de plantas medicinais crescem 20% ao ano, e as ervas apresentam a área de maior crescimento na farmácia de varejo,

excedendo o crescimento da droga convencional.<sup>2</sup>

As plantas medicinais estão presentes em inúmeros alimentos, tornando-os mais saborosos e digestivos, apresentam ação indireta e complementar como agentes antimicrobianos, devido à presença de óleos essenciais. Esses são constituídos por princípios ativos voláteis, que podem ser obtidos mediante métodos de extração.<sup>4</sup>

As substâncias químicas dos óleos essenciais apresentam compostos capazes de inibir direta ou indiretamente os sistemas enzimáticos bacterianos, mesmo que a maioria de microrganismos seja ainda desconhecida. Seu comportamento é semelhante ao dos antibióticos, e a caracterização da célula “alvo” é decisiva para essa aplicação.<sup>5,6</sup>

Em um estudo em 2007 sobre atividade de *Anacardium occidentale* Linn (Cajueiro) frente à inibição de amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus* foi observada uma atividade satisfatória de 100% em diferentes concentrações deste extrato.<sup>18</sup> Alguns extratos de árvores nativas, como *Ocotea odorifera* (Canela), *Schinus terebinthifolia* (Aroeira), *Hymenaea courbari* (Jatobá), *Copaifera langsdorffii* (Copaíba), *Myroxylon peruiferum* (Bálsamo do Peru), *Ilex paraguariensis* (Erva-mate), *Bixa orellana* (Urucum), *Psidium guajava* (Goiabeira) também apresentaram atividade antimicrobiana sobre o *S. aureus*.<sup>18,19</sup>

Espécies vegetais continuam a representar fontes de inúmeras drogas e estudos relacionados à investigação de suas propriedades terapêuticas, constituem importantes ferramentas para esclarecimento científico. Assim uma espécie pode ser analisada quanto aos seus constituintes químicos

obtidos em diferentes situações. Essas composições naturais se tornaram um conveniente atrativo devido às suas propriedades biológicas e organolépticas.<sup>20</sup>

Por outro lado, os microrganismos que causam prejuízos à saúde humana estão se mostrando resistentes à maioria dos antimicrobianos conhecidos, o que incentiva ainda mais a procura por antibióticos de origem natural.<sup>5</sup>

Dessa forma, observa-se uma forte tendência pelo uso de plantas aromáticas para muitos propósitos, incluindo seu uso como agentes antimicrobianos, considerando-se a

composição e o potencial antimicrobiano de seus respectivos óleos essenciais.<sup>21</sup>

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram uma atividade antibacteriana satisfatória do extrato de manjerição, comprovando que óleos essenciais de plantas nativas podem exercer atividades antimicrobianas, podendo futuramente substituir o uso de medicamentos tradicionais. No entanto, estudos posteriores fazem-se necessários no intuito de obter-se o constituinte ativo presente no extrato do *Ocimum basilicum* (Manjerição) e elucidar-se o mecanismo de ação do mesmo.

## REFERÊNCIAS

1. Jones FA. Herbs: useful plants. J R Soc Med. 1996 Dez;89(12):717-9.
2. Winslow L C, Kroll DJ. Herbs as Medicines. Arch Intern Med. 1988 Nov;158:2192-9.
3. Dubick MA. Historical perspectives on the use of herbal preparations to promote health. J Nutrition. 1986 Jul;116(7):1348-54.
4. Michelin DC, Moreschi PE, Lima AC, Nascimento GGF, Paganelli MO, Chaud MV. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. Braz J Pharmacogn. 2005 Out/Dez;15(4):316-20.
5. Ernandes FMPG, Garcia-Cruz CH. Atividade antimicrobiana de diversos óleos essenciais em microrganismos isolados do meio ambiente. Bol Centro Pesqui Process Aliment. 2007 jul/dez;25(2): 193-206.
6. Mendonça AT. Efeito dos óleos essenciais de condimentos sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* em ricota cremosa [Tese]. Lavras: Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciência e Agrotecnologia; 2004.
7. Skinner D, Keefer CS. Significance of bacteremia caused by *Staphylococcus aureus*. Arch Intern Med. 1941;68(5):851-75.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute, Organização Panamericana de Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana. 15º Suplemento Informativo [Internet]. 2005 [Citado 2010 Jul 30];25(1): Disponível em: [http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/biblioteca/clsi\\_OPASM100S15.pdf](http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/biblioteca/clsi_OPASM100S15.pdf)
9. Shinefield HR, Ruff NL. Staphylococcal Infections: a historical perspective. Infect Dis Clin North Am. 2009 Mar;23(1):1-15.
10. Mylotte JM, McDermott C, Spooner JA. Prospective study of 114 consecutive episodes of staphylococcus aureus bacteremia. Rev Infect Dis. 1987;9(5):891-907.
11. Stangarlin JR, Schwan-Estrada KRF, Cruz MES, Nozaki MH. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. Biotecnol Ciênc Desenvolv. 1999;2(11):16-21.
12. Al-Bayati FA, Al-Mola HF. Antibacterial and antifungal activities of different parts of *Tribulus terrestris* L. growing in Iraq. J Zhejiang Univ Sci B. 2008;9(2):154-9.
13. Silva CHPM. Bacteriologia: um texto ilustrado. São Paulo: Eventos; 1999.
14. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Microbiologia. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2000.
15. Hoffmann FL, Souza SJF, Garcia-Cruz CH, Vinturim TM, Dutra AL. Determinação da atividade antimicrobiana “in vitro” de quatro óleos essenciais de condimentos e especiarias. Bol Centro Pesqui Process Aliment. 1999;17:11-20.

16. Arora DS, Kaur J. Antimicrobial activity of spices. *Internat J Antimicrobial Agent*. 1999;12(3):257-62.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute, Organização Panamericana de Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico. [Internet]. 1999 [Citado 2010 Jul 30];23(2): Disponível em: [http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/biblioteca/clsi\\_OPASM7\\_A6.pdf](http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/biblioteca/clsi_OPASM7_A6.pdf)
18. Silva JG, Souza IA, Higino JS, Siqueira Junior JP, Pereira JV, Pereira MSV. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn em amostras multiresistentes de *staphylococcus aureus*. *Rev Bras Farmacogn*. 2007;17(4):572-7.
19. Haslam E. Natural polyfenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action. *J Nat Prod* 59: 205-215.
20. Ntezurubanza L, Scheffer JJC, Swendsen AB 1987. Composition of the essential oil of *Ocimum gratissimum* grown in Rwanda. *Planta Med*. 1987;53:421-3.
21. El-Sissi HI, El-Ansary MA. 1967. Tannins and polyphenolics of the leaves of *Myrtus communis*. *Planta Med*. 1967;15:41-51.

**Correspondência:** Robson Luís Assunção Dos Santos Faculdade de Medicina de Itajubá  
Avenida Getúlio Vargas, 400 CEP: 37115-000 Monte Belo MG, Brasil  
E-mail: robinhoassuncao@hotmail.com