

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E DESINFECÇÃO HOSPITALAR COM
EXTRATO DE CRAVO-DA-ÍNDIA
(SYZYGIUM AROMATICUM E/OU CARYOPHYLLUS AROMATICUS L.)**
*Antimicrobial activity and hospital disinfection with clove extract (Syzygium aromaticum
and/or Caryophyllus aromaticus L.)*

HORVAT, Elizabeta¹; MIYASAKA, Natália Reiko Sato²;

¹Graduando do Curso de Biomedicina – Universidade São Francisco; ²Professora do Curso de Biomedicina – Universidade São Francisco)

horvatelizabeta@gmail.com

RESUMO. A resistência a drogas de patógenos humanos tornou-se um problema de saúde pública devido à redução na eficácia terapêutica a diversos antimicrobianos e a procura de substâncias que apresentem atividade antimicrobiana é grande, principalmente em relação a cepas provenientes de ambiente hospitalar, assim, torna-se importante a busca constante de novas substâncias capazes de inibir microrganismos patógenos a partir de fontes naturais. Este trabalho teve por objetivo avaliar qualitativamente a atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato alcoólico de botões florais secos de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L.) frente às linhagens bacterianas Gram-negativas *Salmonella* sp, *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase, *Pseudomonas aeruginosa*, frente às bactérias Gram-positivas *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* e o fungo *Candida albicans*. A avaliação antimicrobiana dos extratos foi realizada pelo método de disco-difusão e indicaram que todas as cepas utilizadas neste estudo foram sensíveis aos extratos testados. Com o aumento na incidência de doenças infecciosas provocadas por resistência bacteriana devido ao uso irracional de antimicrobianos deu-se o surgimento de cepas multirresistentes, principalmente relacionados a pacientes hospitalizados e imunocomprometidos, tornando-se assim de grande interesse científico nas últimas décadas a procura e obtenção de substâncias que apresentem atividade antimicrobiana e que inibam o crescimento de microrganismos patogênicos.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana, *Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L., Desinfecção hospitalar, Cravo-da-índia.

ABSTRACT. The resistance to drugs of human pathogens has become a public health problem due to the reduction in therapeutic efficacy to several antimicrobials and the demand for substances that present antimicrobial activity is great, mainly in relation to strains coming from hospital environment, the constant search for new substances capable of inhibiting pathogenic microorganisms from natural sources is important. This work aimed to qualitatively evaluate the *in vitro* antimicrobial activity of the alcoholic extract of dried floral buds of clove (*Syzygium aromaticum* and / or *Caryophyllus aromaticus* L.) against Gram-negative bacterial strains *Salmonella* sp, *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase, *Pseudomonas aeruginosa*, against Gram-positive bacteria *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* and fungi *Candida albicans*. The antimicrobial evaluation of the extracts was performed by the disc-diffusion method and indicated that all the strains used in this study are sensitive to the extracts tested. With the increase in the incidence of infectious diseases caused by bacterial resistance due to

the irrational use of antimicrobials, the emergence of multiresistant strains, mainly related to hospitalized and immunocompromised patients, became of great scientific interest in the last decades the search and obtainment of substances that present antimicrobial activity and which inhibit the growth of pathogenic microorganisms.

Keywords: Antimicrobial activity, *Syzygium aromaticum* and /or *Caryophyllus aromaticus* L., Hospital disinfection, Clove.

INTRODUÇÃO

As plantas são dotadas de mecanismos químicos para se defender de herbívoros e patógenos, tal fato, explica a complexa constituição química das plantas, as substâncias produzidas por elas e seus metabólitos utilizados para atacar seus predadores podem também ter efeito sobre males que afligem o homem.

Alguns metabólitos secundários de plantas que são produzidas pelo seu próprio metabolismo podem também alcançar alvos terapêuticos em doenças humanas (FERREIRA, 2010).

O uso de plantas para tratamento de enfermidades é uma prática tão antiga quanto a civilização humana, sendo possível encontrar registros que descrevem as terapias em continente Africano (Egito) e Asiático (China), com suas propriedades medicinais de diversas plantas (ALMEIDA, 1993).

Portanto, o uso de plantas como tratamento terapêutico é algo muito antigo e vem sendo passado como tradição de geração para geração. No entanto, apesar das plantas medicinais já estarem arraigadas na cultura popular, nas últimas décadas, o interesse pela fitoterapia, nome dado ao tratamento de doenças mediante o uso de plantas, teve um aumento considerável entre usuários, pesquisadores e serviços de saúde. A Organização mundial da saúde (OMS, 1991) já reconhece o potencial das plantas medicinais no âmbito sanitário e na atenção básica à saúde, uma vez que toda planta que possui sua eficácia terapêutica e princípios ativos comprovados cientificamente pode ser utilizada pela população como forma de suprir as suas necessidades básicas de saúde. Por sua vez, o Ministério da Saúde recomenda e indica diversas plantas medicinais aprovadas pela ANVISA, uma vez que seu uso está consagrado na cultura da medicina popular brasileira (FERREIRA, 2010).

As plantas consideradas medicinais beneficiaram, e continuam beneficiando a humanidade. Não necessitam dos testes clínicos como os fármacos sintéticos, credenciaram-se pelo seu uso tradicional ao longo de séculos. Ainda nos dias de hoje muitas são utilizadas para tratamento, mesmo havendo medicamentos sintéticos no mercado para o tratamento das mesmas patologias (FERREIRA, 2010).

Sendo assim, o uso tradicional das plantas como medicamentos, contribuíram para a intensa investigação no qual óleos essenciais e extratos poderiam ser úteis em condições terapêuticas específicas (SIMÕES *et al.*, 2007).

Dentre inúmeras plantas estudadas destacam-se *Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L., popularmente conhecido como cravo-da-índia, o qual é o foco dessa pesquisa que visa investigar suas propriedades antimicrobianas do extrato alcoólico de *Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L.

O craveiro-da-índia, de nome científico (*Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L.), pertence à família *Myrtaceae* e originária da Indonésia, conta com cerca de 3.000 espécies de árvores e arbustos tropicais e subtropicais. A copa do craveiro bem verde

geralmente de formato piramidal, folhas e seus botões florais secos de importância farmacológica pode ser observada em (Figura 1).



Figura 1- Cravo-da-índia. Partes fisiológicas que compõe *Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L. (Fonte: Próprio autor).

Seu nome científico varia com a classificação adotada; mais recentemente, foi classificado como *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry, existindo, porém, várias citações anteriores, a saber: *Eugenia caryophyllus* (Sprengel) Büllock et Harrison, *Caryophyllus aromaticus* L, *Eugenia caryophyllata* Tumb e *Eugenia aromatica* (L) Baill (MAEDA *et al*, 1990).

Segundo Mazzafera (2003) as folhas são semelhantes às do louro, ovais, opostas e de coloração verde brilhante, com numerosas glândulas de óleo visíveis contra a luz (Figura 2).



Figura 2- Glândulas de óleo visíveis contra a luz de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L.) (Fonte: Próprio autor).

A parte da planta que tem importância comercial e farmacológica são os botões florais, desses botões pode ser extraído o óleo essencial, cuja substância majoritária é o eugenol (MAZZAFERA, 2003). A substância que deixa o cravo com um sabor e aroma marcante é o eugenol, um composto fenólico volátil. Nas folhas, segundo Raina e colaboradores *et al.* (2001) *apud* Mazzafera (2003), o eugenol representa cerca de 95% de óleo extraído.

O cravo-da-índia ainda possui outras substâncias como o acetato de eugenol e β -cariofileno (MAZZAFERA, 2003).

Dentre os diferentes grupos de patógenos causadores de infecção hospitalar estão fungos, vírus e bactérias. No entanto, o grupo que mais se destaca é o das bactérias que constituem a flora humana e que normalmente não trazem riscos a indivíduos saudáveis, embora possam causar infecções em indivíduos com estado clínico comprometido (ANVISA, 2004). Microrganismos podem causar doenças e podem ser transmitidos pelas mãos (Figura 3A) ou vetores mecânicos, como as formigas (Figura 3B).

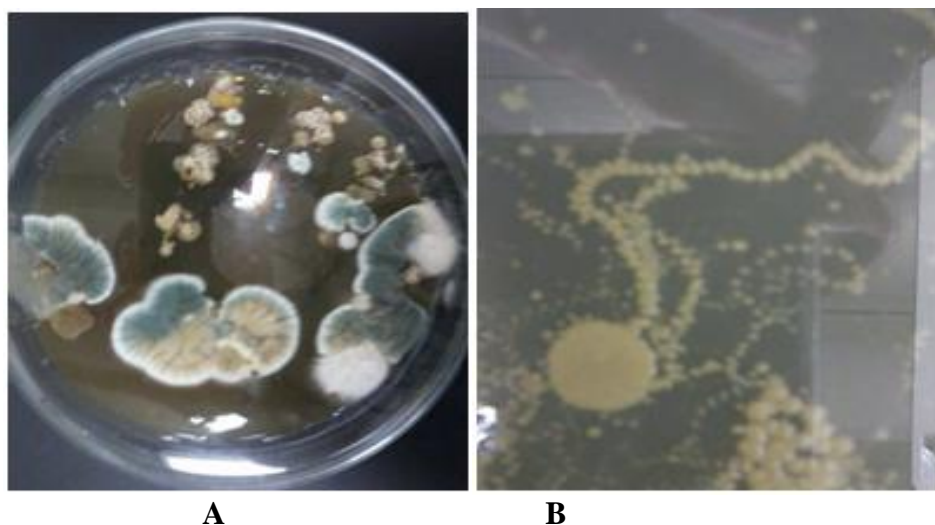


Figura 3 - Propagação de microrganismos. A) Observação macroscópica de microrganismos em placa, após contato das mãos em superfícies; B) Observação do curso de vetores (formigas) (Fonte: Próprio autor).

A redução na eficácia terapêutica a diversos antimicrobianos é preocupante, a procura de substâncias que apresentem atividade antimicrobiana é grande. O objetivo deste trabalho foi a obtenção de extrato bruto, avaliar a atividade antimicrobiana frente às linhagens bacterianas Gram-negativas como *Salmonella sp*, *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase e *Pseudomonas aeruginosa*; frente às bactérias Gram-positivas: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus* e o fungo *Candida albicans*.

Mesmo com a ação diversificada dos antimicrobianos, a exposição excessiva aos fármacos por longos períodos contribuiu para o desenvolvimento de diversos mecanismos de resistências bacterianas (WRIGHT, 2005).

A resistência apresentada por microorganismos traz uma redução na eficácia terapêutica dos medicamentos normalmente indicados para tratamento e controle de diversas infecções, o que torna o assunto preocupante, diante deste fato, medidas defensivas a serem tomadas incluem o controle do uso de antimicrobianos, pesquisas que ajudem a compreender os mecanismos de resistência microbiana (NASCIMENTO *et al.*, 2000), e a procura por novas drogas com ação antimicrobiana

Este trabalho teve como objetivo testar novas substâncias que apresentem atividade antimicrobiana contra patógenos humanos e que podem estar envolvidos em casos de infecção hospitalar, a fim de agregar novos princípios químicos ao combate a resistência microbiana.

METODOLOGIA

Obtenção de Material Vegetal

Foram utilizados botões florais secos de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L.). Os botões florais de *Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L., foram obtidos em sua forma industrializada (Kitano®), os quais já vêm secos.

Preparação do extrato

Foram feitos três extratos alcoólicos a partir do cravo (*Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L.) O primeiro com mais tempo de repouso em etanol do que o segundo, e o terceiro extrato foi obtido através do primeiro extrato com o objetivo de verificar a viabilidade do extrato após algum tempo de armazenamento. Os extratos foram feitos para verificar se o princípio ativo dos compostos foi obtido em ambas as formas de extração.

Extrato n° 1

Cerca de 20 botões florais de cravo foram colocados em Becker contendo 20 ml de etanol 70%. A solução ficou vedada com papel filme e em repouso à temperatura ambiente durante 02 (dois) meses.

Após os 02 (dois) meses (Figura 4A), o papel filme que vedava a solução foi perfurado e deixado por 10 (dez) dias em repouso em temperatura ambiente, a fim de promover a evaporação do etanol, ao final restando 10% do meio líquido, até restar uma massa pastosa com formação de grânulos cristalizados no fundo do recipiente (Figura 4B). A solução foi levada à geladeira para ser ressuspensa em 180 µl de água destilada para o teste das cepas.

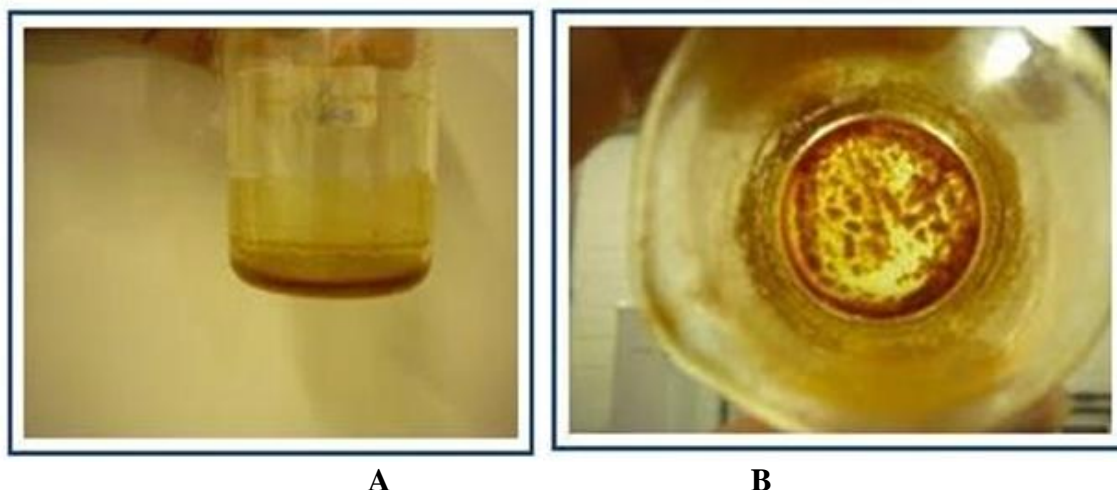


Figura 4 - Preparo do extrato de *Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L. **A)** Extrato concentrado de cravo-da-índia, após a evaporação do etanol. **B)** Massa pastosa com formação de grânulos cristalizados (Fonte: Próprio autor).

Extrato nº 2

Foram colocados em um Becker 2g de cravo em 20 ml de etanol à 70%, deixado em repouso por 17 dias. Após o repouso a solução foi filtrada e depois deixada coberta com filme plástico contendo furos para a evaporação do etanol. Com finalidade de acelerar o processo de evaporação a solução foi colocada no rota-evaporador por um período de 20 min, à 80°C, ao final restando 10% da solução. Após o repouso, a solução que apresentou um aspecto mais oleoso, foi mantida em geladeira.



Figura 5 - Preparo do extrato de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L.). Solução de consistência oleosa, após o processo de evaporação por rotaevaporador (Fonte: Próprio autor).

Extrato nº 3

Parte da solução do extrato nº 01, contendo cravo e etanol à 70%, foi armazenada por cerca de 09 (nove) meses em frasco âmbar. Posto para evaporar em temperatura ambiente, restando 10 ml da solução após 07 (sete) dias.

O extrato nº 01 após evaporação do etanol (Figura 6) em visualização de microscópio óptico possui aspecto de grânulos cristalizados.

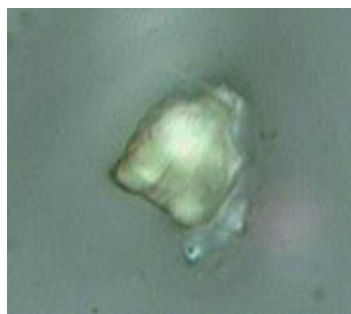


Figura 6 - Extrato de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L.). Visualização microscópica do extrato de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L.) (Fonte: Próprio autor).

Obtenção e manutenção de microrganismos

Foram avaliadas qualitativamente a ação antimicrobiana *in vitro* do extrato de botões florais secos de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L.) frente às bactérias Gram-negativas *Salmonella* sp, *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase e *Pseudomonas aeruginosa*., frente às bactérias Gram-positivas *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus* e o fungo *Candida albicans*.

As linhagens bacterianas Gram-positivas *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes* e *Staphylococcus aureus* e Gram-negativa *Salmonella* sp, e a linhagem fúngica *Candida albicans*, utilizadas neste trabalho foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Pesquisa em Microbiologia Aplicada da Universidade São Francisco (USF), campus de Bragança Paulista.

As cepas foram repicadas 24 horas antes do preparo do inóculo, sendo *S. aureus* e *Salmonella* sp. repicadas em ágar nutriente (Himedia) incubadas em estufa à 37°C por 24 horas e *S. pyogenes* e *S. mutans* repicadas em ágar sangue (Himedia) e incubadas por 24 horas em jarra de microaerofilia, o fungo *Candida albicans* em ágar Sabouraud.

Dentro das Bactérias Beta- hemolíticas foi dado ênfase a duas espécies patogênicas principais:

- *S. pyogenes*
- *S. agalactiae*

A identificação de *Streptococcus pyogenes* foi confirmada pela coloração de Gram e provas bioquímicas, onde observou-se a presença de estreptococo Gram positivo, catalase negativa, Beta hemolítico, sensível a Bacitracina (Figura 7).

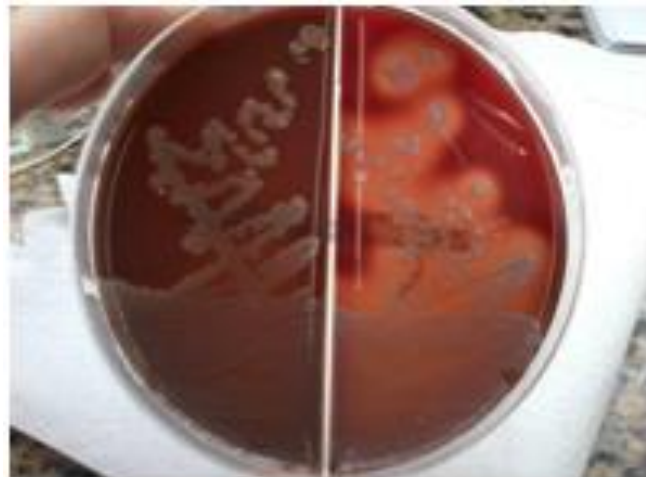


Figura 7 - amostra de estreptococo beta hemolítico com hemólise total (transparente e translúcido) em ágar sangue (Fonte: Próprio autor).

Para separar os Beta hemolíticos foi necessário teste de sensibilidade ao antibiótico Bacitracina;

- Sensíveis a Bacitracina - *S. pyogenes*
- Resistente a Bacitracina - *S. agalactiae*

As bactérias *Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemase, *Pseudomonas aeruginosa*. e *Streptococcus agalactiae*, foram obtidos de amostra clínica. *Klebsiella Pneumoniae*

Carbapenemase (KPC) é um bacilo Gram-negativo, produz enzimas betalactamases com resistência a cefalosporinas e carbapenemases, que oferece resistência a antibióticos carbapenêmicos. O crescimento e o isolamento de colônias brilhantes e mucóides da KPC em placa de ágar MacConkey (Figura 8B) e a identificação da espécie através de testes bioquímicos (Figura 8A).

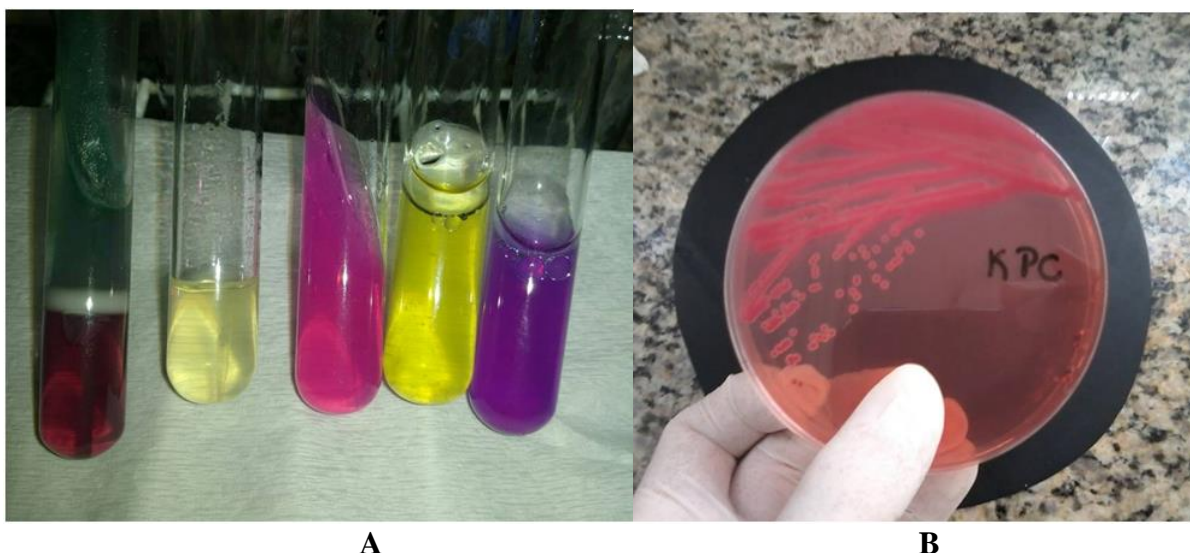


Figura 8 - Isolamento e identificação da Bactéria Gram-negativa *Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemase **A)** testes bioquímicos: Oxidase (-), MCS (+), Citrato (+, maioria), Indol (-), Motilidade (-, sempre), Ureia (-) para *ozaenae* e Ureia (+) *pneumoniae*, Arginina (-), Lisina (+), VP (+). **B)** Desenvolvimento de colônias rosadas e brilhantes de aspecto gomoso (mucóide) de KPC (Fonte: Próprio autor).

Avaliação da Atividade Antimicrobiana

Preparo do inóculo

Para a preparação do inóculo foram repicadas bactérias através da técnica de esgotamento e deixadas em crescimento por 24 h em temperatura de 36°C e tubos contendo salina que foram auto-clavados.

Difusão em Disco

Os testes de sensibilidade para avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos alcoólicos dos botões florais secos de *Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L., foram realizados através do teste qualitativo de difusão em disco da seguinte forma:

Após o crescimento bacteriano de 24 horas, observou-se colônias isoladas das quais selecionou-se de 3 a 4 colônias que foram aplicadas em solução salina estéril a 0,85% NaCl até atingir a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala de MacFarland (0,05 mL de cloreto de bário dihidratado a 1,175% em 9,95 ml de ácido sulfúrico 1%) correspondendo aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/ml.

Os meios de cultura ágar Mueller Hinton foram retirados da refrigeração e deixados em temperatura ambiente.

Introduziu-se o swab no tubo de ensaio contendo a suspensão bacteriana e apertou-se firmemente contra a parede interna do tubo, acima do nível do líquido, a fim de retirar qualquer excesso de inóculo do swab.

A superfície seca da placa de Ágar Mueller- Hinton sólido foi semeada esfregando o swab em toda a superfície estéril do Ágar, girando a placa aproximadamente 60° cada vez, a fim de assegurar a distribuição uniforme do inóculo e com passo final passara-se o swab na margem da placa de Ágar.

Esterilizou-se a pinça e fixou-se os discos de papel-filtro (Cecon) de 12 mm estéreis no meio de cultura colocados na superfície da placa de Ágar semeada, frente às bactérias *Salmonella sp.*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*; Para *Klebsiella pneumoniae Carbapenemase*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptococcus agalactiae*, foram utilizados discos de menor diâmetro (6 mm).

Cada disco foi pressionado de encontro à placa, de maneira a assegurar contato com a superfície de Ágar e em seguida os discos foram impregnados com 60 µl de cada extrato preparado previamente. As placas foram incubadas por um período de 24h, a 37°C e após este período procedeu-se a realização da leitura dos resultados.

Todos os testes foram realizados em duplicata sendo considerada a média aritmética das duas medidas, considerado como atividade de inibição a presença de halos de inibição indicando as cepas sensíveis aos extratos testados neste estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através do método de disco-difusão puderam indicar que houve a formação do halo de inibição de crescimento em todas as cepas utilizadas neste estudo (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados dos testes de difusão em disco, média da duplicata dos halos de inibição do crescimento bacteriano em mm (milímetro).

Microrganismos	Extrato nº 1 (mm)	Extrato nº 2 (mm)	Extrato nº 3 (mm)
<i>Salmonella sp</i>	20	17	18
<i>Streptococcus mutans</i>	22	18	20
<i>Streptococcus pyogenes</i>	39	38	34
<i>Staphylococcus aureus</i>	30	24	24
<i>Candida albicans</i>	25	30	28

Fonte: Próprio autor

Candida albicans é um fungo leveduriforme que pode causar candidíase, podendo ser desde uma micose superficial até uma infecção sistêmica, passando para a circulação sanguínea, por esse motivo torna-se importante a abordagem clínica em pacientes imunocomprometidos, principalmente portadores de Vírus da imunodeficiência Humana (HIV). O halo de inibição do crescimento de *Candida albicans* pode ser observado (Figura 9).

Foram realizados testes com antifúngicos quimioterápicos como Nistatina, Voriconazol e Fluconazol (Figura 9A) e com o extrato nº 02 e 03 de cravo-da-índia (Figura 9B).

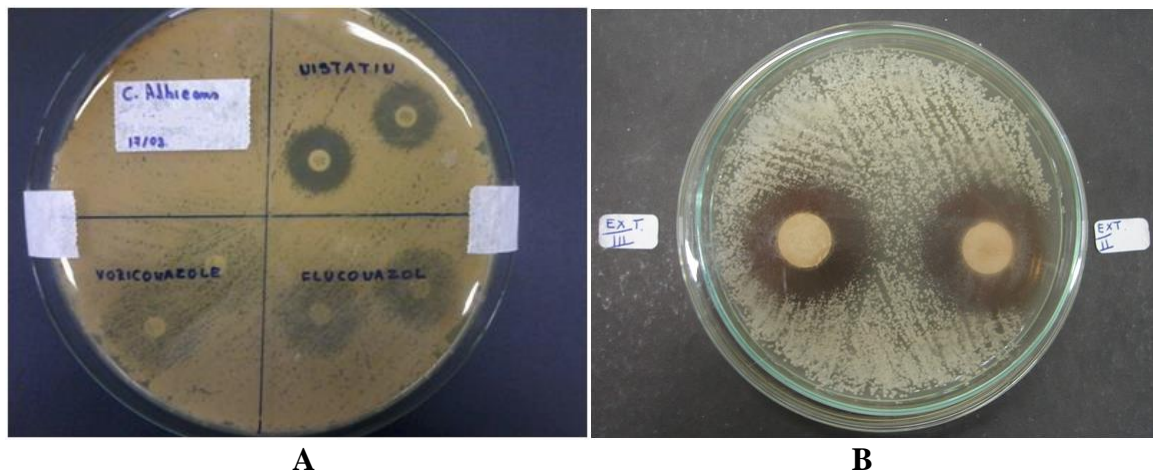


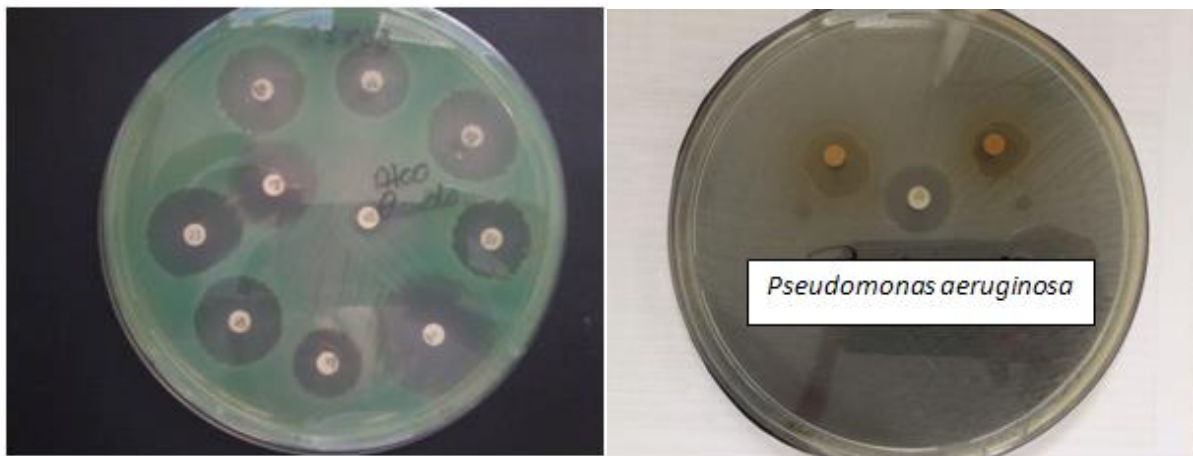
Figura 9 - *Candida albicans*. A) halo de inibição de medicamento antifúngico (Nistatina, Voriconazol, Fluconazol) B) halo de inibição do extrato de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L.) (Fonte: Próprio autor).

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Micrococcae* e compreende várias espécies dentre elas o *Staphylococcus aureus* (Figura 10), bactéria Gram-positiva envolvida em vários casos de infecção em humanos. Houve a formação do halo de inibição do crescimento, frente ao extrato nº 01 de cravo-da-índia (Figura 10).



Figura 10 - Teste em difusão em disco com *Staphylococcus aureus*. Halos formados com o extrato nº 01 de cravo-da-índia (Fonte: Próprio autor).

A Bactéria *Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo Gram-negativo com colônias de coloração transparente ou esverdeada, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Figura 11 A), com odor de cheiro adocicado característico de uva, podem apresentar aspecto semelhante a bactéria *Proteus* (colônia transparente), portanto sua diferenciação está relacionada com a oxidase, *Pseudomonas* são oxidase positiva.

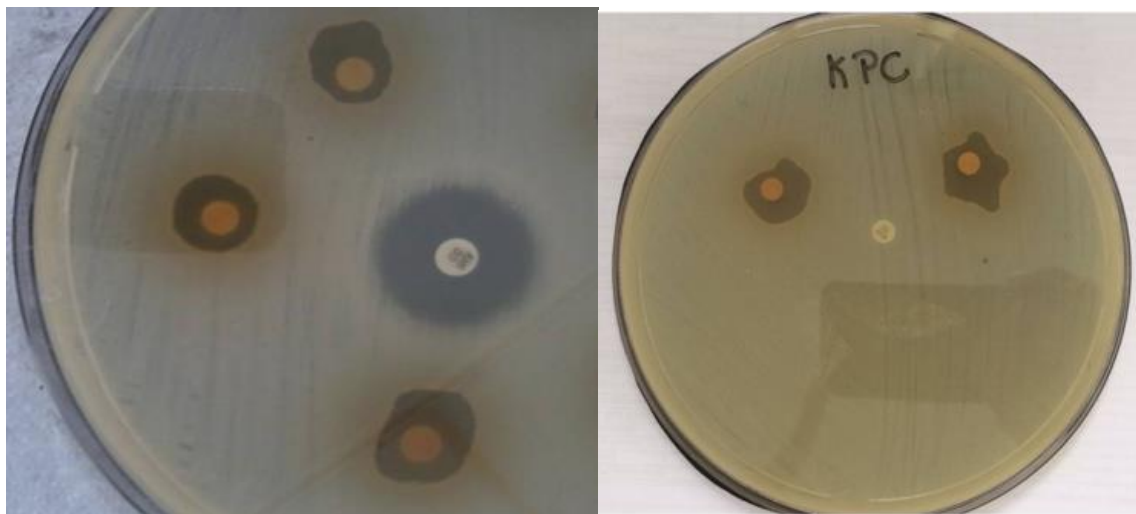


A

B

Figura 11- *Pseudomonas aeruginosa*. A) observação dos halos formados em antibiograma para *Pseudomonas aeruginosa* B) observação de halos formados a partir do extrato nº 01 de cravo-da-índia (Fonte: Próprio autor).

Gênero *Klebsiella pneumoniae Carbapenemase* (KPC) bactéria gram-negativa, não apresenta odor característico, encapsulado, anaeróbia facultativa da família das Enterobacterias (Figura12).



A

B

Figura 12- Bactéria *Klebsiella pneumoniae Carbapenemase*, obtidas de amostras clínicas; A) halo de inibição irregular KPC, devido ao uso de disco de diâmetro menor; B) visualização da comparação do disco AMP (ampicilina) e da formação do Halo do extrato nº 01 de *Syzygium aromaticum* e/ou *Caryophyllus aromaticus* L. (Fonte: Próprio autor).

A formação de halos de inibição do crescimento irregular ocorreu também com as duas outras bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptococcus agalactiae*, portanto, não foi possível a medição exata dos halos.

CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos, verifica-se que o extrato nº 01 tem maior efeito que os demais, o que pode indicar que um maior tempo de extração em etanol possa adquirir maior concentração de princípios ativos. A resistência microbiana é um dos principais motivos que leva à busca de novos compostos que inibam o crescimento de microrganismos patógenos.

Em relação aos microrganismos cedidos pelo Laboratório de Pesquisa em Microbiologia da Universidade São Francisco (USF), *campus* de Bragança Paulista, há uma maior sensibilidade do *Streptococcus pyogenes* ao composto. Em ordem de maior sensibilidade, os resultados se mostram da seguinte forma: *Streptococcus pyogenes*; *Staphylococcus aureus*; *Candida albicans*; *Streptococcus mutans*; *Salmonella sp.* Quanto aos microrganismos obtidos de amostra clínica, *Klebsiella pneumoniae Carbapenemase*, *Pseudomonas aeruginosa*. e *Streptococcus agalactiae* observou-se a sensibilidade, mas esta não pôde ser medida devido a irregularidade dos halos.

Ainda pode-se concluir, através dos resultados, que a propriedade antimicrobiana pouco se perdeu do extrato nº. 01 para o extrato nº. 03.

A finalidade deste trabalho foi demonstrar a importância das propriedades antimicrobiana a partir de produtos naturais que tem sido comprovada em pesquisas de todo o mundo, utilizando técnicas de ensaio *in vitro* em testes de susceptibilidade, verificando assim a importância dos estudos aprofundados neste tema. A procura de novos princípios ativos com ação antimicrobiana tanto de origem sintética como de origem vegetal tem sido investigada em larga escala com objetivo de controlar a disseminação de patógenos.

Portanto, apesar de uma discreta diferença entre os extratos, o que pôde-se verificar é que os extratos preparados alcançaram o objetivo, ou seja, apresentaram atividade antimicrobiana. Os resultados desta pesquisa visam estimular o prosseguimento das pesquisas.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Manual de Microbiologia Clínica para Controle de Infecção em Serviços de Saúde**. 1. ed.; Editora Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2004. Disponível em: <http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_completo.pdf>. Acessado em: 10/03/2018.

ALMEIDA, E. R. **Plantas medicinais brasileiras**. 1 ED. São Paulo: Hemus, 1993.

BARRY, A. L.; THORNSBERRY, C., *Et al.* **Susceptibility test: diffusion Test procedures**. Manual of clinical microbiology. 5.ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, p. 1117-1125; 1991.

FERREIRA, V. F.; PINTO, A. C. **A fitoterapia no mundo atual**. Quím. Nova, v.33, n.9, p. 1829-1829, 2010.

FERREIRA, V. F. **A fitoterapia no mundo atual**. Quím. Nova, vol.33, no.9; São Paulo, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422010000900001>. Acessado em: 22/04/2018.

GRIMOUD, A.M.; *Et al.* **Colonization of the oral cavity by *Candida* species: risk factors in long-term geriatric care.** J Oral Sci; v.45, n.º.1; p. 51-55; 2003. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/0bd7/0402c5551ed71df95dc23dbd6c4e22aca8e7.pdf>>.

Acessado em: 10/03/2018.

MAEDA, J. A.; *Et al.* **Craveiro-da-índia: Características físicas das sementes e seus efeitos na germinação e desenvolvimento vegetativo.** Campinas; v.º.49, n.º.1, p. 23-36; 1990. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/brag/v49n1/03.pdf>>. Acessado em: 22/04/2018.

MAZZAFERA, P. **Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol.** Revista Brasil. Bot., V.26, n.2, p.231-238, jun/2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-84042003000200011&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acessado em: 14/04/2018.

NASCIMENTO, G. F. *Et al.* **Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria.** Brazilian Journal of Microbiology; v.31, n.4, p.247-56; 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822000000400003>. Acessado em: 15/04/2018.

ORGANIZACIÓN Mundial de laSalud (OMS). **Medicina tradicional y asistencia sanitaria moderna.** Conselho Executivo; Foro mundial de lasalud. Revista Internacional de Desarrollo Sanitario; v.12, n.1, p.120; 1991. Disponível em: <<http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s21201es/s21201es.pdf>>. Acessado em: 22/04/2018.

SIMÕES, C.; *Et al.* **Farmacognosia da planta ao medicamento.** Editora Universidade/URFGS, 6ºed. Porto Alegre/Florianópolis; UFSC, 2007.

SOUZA, M. M.; *Et al.* **Método de avaliação biológica de produtos naturais e sintéticos.** Itajaí: Ed. Univali, 2003.

TAVARES, W. **Bactérias Gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos.** Rev. Soc. Brasil. Med.; v. 33, p. 281-301; 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0037-86822000000300008&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acessado em: 10/03/2018.

WRIGHT, G. D. **Bacterial resistance to antibiotics. Enzymatic degradation and modification.** Advanced Drug Delivery Reviews; v.57, p. 1451-1470; 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X05000980?via%3Dihub>>. Acessado em: 15/04/2018.

Publicado em 17/12/2019