

Avaliação da atividade antimicrobiana e moduladora do extrato hexânico de *Costus cf. Arabicus* L.

Evaluación de la actividad antimicrobiana y modulación del extracto de hexano de *Costus cf. Arabicus* L.

Evaluation of the antimicrobial and modulating activity of hexane extract from *Costus cf. Arabicus* L.

PhD. Celestina Elba Sobral de Souza,^I MSc. Nadghia Figueiredo Leite,^I MSc. Dara Isabel Vieira de Brito,^I MSc. Liscássia Beatriz Batista Alencar,^I BSc. Anne Karyzia Lima Santos de Lavor,^I MSc. Edinaldo Fagner Ferreira Matias,^{I,III} PhD. Rosimeire Sabino Albuquerque,^I BSc. João Victor de Alencar Ferreira,^I BSc. Francisco Assis Bezerra da Cunha,^I PhD. Saulo Relison Tintino,^I BSc. José Galberto Martins Costa,^{II,III} PhD. Henrique Douglas Melo Coutinho,^I

^I Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Regional do Cariri, Crato (CE), Brasil.

^{II} Laboratório de Pesquisas em Produtos Naturais, Universidade Regional do Cariri, Crato(CE), Brasil.

^{III} Faculdade Leão Sampaio, Juazeiro do Norte (CE), Brasil.

RESUMO

Introdução: a *Pseudomonas aeruginosa* é conhecida por causar infecção aguda pela produção de toxinas. Alguns espécimes de *Staphylococcus* são frequentemente reconhecidos como agentes etiológicos de infecções oportunistas em muitos animais e homens. *Escherichia coli* é uma das principais causas de doenças infecciosas humanas. O gênero *Candida* produz diversos fatores de virulência, as infecções são provavelmente iniciadas por modificações de defesas do hospedeiro.

Objetivo: avaliar o efeito antimicrobiano do extrato hexânico de *Costus cf.* e modulação da atividade antibiótica de *Costus cf. Arabicus* L.

Métodos: o material botânico de *Costus cf. Arabicus* L., foi coletado no município

de Crato, Ceará, Brasil. Para a preparação dos extratos foram coletados folhas e caules frescos, submersos em hexano separadamente por 72 h, sendo após esse período, filtrado e concentrado em condensador rotativo a vácuo. Foram realizados testes de atividade antimicrobiana (CIM) e modulação da atividade antimicrobiana com cepas padrões e multirresistentes de bactérias e fungos.

Resultados: o extrato demonstrou atividade antibacteriana e antifúngica quando combinados com alguns antimicrobianos contra algumas linhagens testadas.

Conclusões: portanto, é sugerido que o extrato de *Costus cf.* pode ser utilizado como uma fonte de produtos naturais na terapêutica antimicrobiana e no combate a multirresistência bacteriana e fúngica.

Palavras-chaves: *Costus cf. arabicus* L., atividade antimicrobiana, modificação de resistência.

RESUMEN

Introducción: *Pseudomonas aeruginosa* se sabe que causa la infección aguda por la producción de toxinas. Algunos ejemplares de *Staphylococcus* suelen ser reconocidos como agentes etiológicos de las infecciones oportunistas en muchos animales y seres humanos. *Escherichia coli* es una de las principales causas de las enfermedades infecciosas humanas. El género *Candida* produce varios factores de virulencia, las infecciones son probablemente iniciadas por los cambios en las defensas del huésped.

Objetivo: evaluar el efecto antimicrobiano del extracto de hexano de *Costus cf.* y la modulación de la actividad antibiótica de *Costus cf. Arabicus* L.

Métodos: el material botánico de *Costus cf. arabicus* L. se recogió en Crato, Ceará, Brasil. Para la preparación de extractos se recogieron las hojas y los tallos frescos por separado y se sumergieron en hexano durante 72 horas, después de eso, se filtró y se concentró en un condensador de vacío rotatorio. Se realizaron ensayos de actividad antimicrobiana (MIC), modulación con cepas multirresistentes y patrones de bacterias y hongos.

Resultados: el extracto mostró actividad antibacteriana y antifúngica cuando se combinan con algunos antibióticos contra algunas cepas ensayadas.

Conclusiones: por lo tanto, el extracto de *Costus cf.* se puede utilizar como una fuente de productos naturales en la terapia antimicrobiana y en la lucha contra la resistencia a múltiples fármacos de bacterias y hongos.

Palabras clave : *Costus cf. Arabicus* L., actividad antimicrobiana, la modificación de la resistencia.

ABSTRACT

Introduction: *Pseudomonas aeruginosa* is known to cause acute infection due to the production of toxins. Some specimens of *Staphylococcus* are often recognized as the etiologic agents of opportunistic infections in many animals and humans. *Escherichia coli* is a leading cause of human infectious diseases. The genus *Candida* produces several virulence factors. Infections are probably initiated by changes in host defenses.

Objective: evaluate the antimicrobial effect of hexane extract of *Costus cf.* and the modulation of *Costus cf. Arabicus*. L. antibiotic activity.

Methods: botanical material from *Costus cf. arabicus* L. was collected at Crato, Ceará, Brazil. For the preparation of extracts fresh leaves and stems were collected,

separately immersed in hexane for 72 hours, and thereafter filtered and concentrated in a rotary vacuum condenser. Tests of antimicrobial activity (MIC) and antimicrobial activity modulation were conducted with multiresistant strain patterns of bacteria and fungi.

Results: the extract showed antibacterial and antifungal activity against some of the strains tested when combined with some antibiotics.

Conclusions: therefore, it is suggested that the extract of *Costus cf.* be used as a source of natural products for antimicrobial therapy and to combat bacterial and fungal multidrug resistance.

Key words: *Costus cf. Arabicus* L., antimicrobial activity, modification of resistance.

INTRODUÇÃO

O espectro de doenças causadas por *Pseudomonas* compreende desde infecções superficiais da pele até septicemia fulminante.¹ A *P. aeruginosa* pode causar infecção aguda pela produção de toxinas, e infecção crônica pela ação da camada espessa que consiste no sebiofilme, ou ainda em uma patologia que é resultado do somatório destes fatores de virulência.²

Bactérias do gênero *Staphylococcus* são distribuídas na natureza, assim como na microbiota normal da pele e da mucosa dos animais e pássaros. Alguns espécimes de *Staphylococcus* são frequentemente reconhecidos como agentes etiológicos de infecções oportunistas em muito animais e homens.^{3,4}

S. aureus, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* e *S. haemolyticus* são as espécies mais importantes causadoras de infecções humanas e hospitalares. Além de causar diferentes intoxicações, *S. aureus* representa o agente etiológico mais comum de infecções purulentas (como, furúnculo, carbúnculo, abscesso, miocardite, endocardite, pneumonia, meningite, artrite bacteriana).⁵

Escherichia coli é uma das principais causas de doenças infecciosas humanas. São conhecidos por produzir enterotoxinas cujas propriedades e seu papel na doença diarreica tem sido amplamente investigado. A atividade das citotoxinas e seu papel na infecção humana já foi identificado,⁶⁻⁸ principalmente em infecções do trato urinário.⁹

O gênero *Candida* produz diversos fatores de virulência, as infecções são provavelmente iniciadas por modificações de defesas do hospedeiro. As infecções de pele e mucosas são principalmente devidas a mudanças na hidratação, no pH, alterações da microbiota da pele e mucosas. O espectro das candidíases é bastante extenso, indo desde manifestações banais, como a colonização de mucosas, até quadros sistêmicos, com a invasão de vários órgãos. As mucosas mais envolvidas, em quadros de candidíase, são as da boca, vagina e esôfago. As espécies mais comumente implicadas em quadros clínicos são as seguintes: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabratae* e *C. krusei*.¹⁰

Com relação às bactérias patogênicas, um problema crescente e preocupante é o aumento da resistência bacteriana aos antibióticos.¹¹ Para pacientes, a resistência antimicrobiana aumenta a morbidade e mortalidade, enquanto que para as instituições de saúde significa aumento de custos.^{12, 13}

O uso de extratos como agentes antimicrobianos, apresenta um baixo risco de aumento da resistência microbiana a sua ação, porque são misturas complexas, fazendo com que haja maiores dificuldades para adaptabilidade microbiana.¹⁴

A família Costaceae, antiga Zingiberaceae, é constituída por quatro gêneros: *Costus*, *Dimerocostus*, *Monocostus* e *Tapeinocheilas*, os quais são encontrados em áreas tropicais e subtropicais através do Novo e do Velho Mundo, em florestas pluviais e outros ambientes higrófilos.¹⁵

Costus é o gênero com maior número de espécies, possuindo cerca de 175 espécies. Com distribuição pantropical, sendo que a maioria de suas espécies ocorrem na Região Neotropical.¹⁵⁻¹⁷ Registram o uso das raízes e rizomas como diurético, tônico, emenagogo e diaforético, enquanto o suco da haste fresco diluído em água tem uso contra gonorréia, sífilis, nefrite, picadas de insetos, problemas da bexiga e diabetes.¹⁸⁻²³ Externamente, sua decocção é empregada para aliviar irritações vaginais, leucorréia e no tratamento de úlceras,²⁴ enquanto que na forma de cataplasma é empregada para amadurecer tumores.²³ *Costus cf. arabicus* L, é também conhecida como cana-do-brejo.

Este estudo foi realizado como objetivo de avaliar o efeito antimicrobiano do extrato hexânico e modulação da atividade antibiótica de *Costus cf. Arabicus* L.

MÉTODOS

Material fúngico e bacteriano

As cepas de fungos utilizados foram *Candida albicans*(ATCC 40006), *Candida tropicalis*(ATCC 40042) e *Candida krusei*(ATCC 2538), as cepas bacterianas padrões usadas foram *S.aureus*(ATCC 25923), *E.coli*(ATCC 10536), *P.aeruginosa* (ATCC 15442) e *K. pneumoniae*(ATCC 4362) e multiresistentes de *S.aureus*(SA 358), *E.coli*(EC 27), *P.aeruginosa* (P 03). Todas as cepas foram mantidas sem *slants* com *Heart Infusion Agar* (HIA, Difco Laboratories Ltda.). Antes do ensaio, as células foram cultivadas por 18h a 37°C em caldo infusão de cérebro e coração (BHI, Difco Laboratories Ltda.)

Material vegetal

O material botânico de *Costus cf. Arabicus* L., foi coletado no município de Crato, Ceará, Brasil. O material vegetal identificado é da família Costaceae e foi depositada uma exsiccata com nº 1267 no herbário Dárdano Andrade Lima- URCA da Universidade Regional do Cariri- URCA.

Preparação de extratos hexânicos das folhas e raízes de *Costus cf. Arabicus L*

Para preparação dos extratos foram coletados folhas e caules frescos que permaneceram submersos em hexano separadamente por 72 h, sendo após esse período, filtrado e concentrado em condensador rotativo a vácuo (model Q-344B-Quimis, Brazil) e ultrathermal banho (model Q214M2- QuimisBrazil), obtendo-se rendimentos dos extratos brutos apresentado na tabela 1. A solução utilizada nos testes foi preparada sob uma concentração de 10 mg/mL, dissolvido sem DMSO(dimetilsulfóxido), em seguida diluída com água destilada para uma concentração de 1024 µg/mL.

Tabela 1. Massa seca e rendimento dos extratos hexânicos de *Costus cf. arabicus L*

Espécie Biológica	Solvente	Massa (folha)	Rendimento (g)	Massa (caule)	Rendimento (g)
<i>Costus cf. ArabicusL.</i>	Hexano	79,72	1,84	79,42	1,54

Drogas

Os antimicrobianos utilizados foram Gentamicina, Amicacina, Neomicina, Nistatina, Anfotericina b, Mebendazol, Benzoilmetronidazol e 8 MOP, todos obtidos pela Sigma Chemical Co.(St. Louis, EUA).

Teste de atividade antimicrobiana (CIM) e modulação da atividade antimicrobiana

A CIM (concentração inibitória mínima) foi determinada em um ensaio de microdiluição²⁵ utilizando-se um inóculo de 100µL de cada linhagem, suspensas em caldo Brain Hear Infusion - BHI até uma concentração final de 10⁵ UFC/mL em placas de microtitulação com 96 poços. Em cada poço foi adicionado 100µL de solução de cada extrato. As concentrações finais dos extratos variaram de 512 a 8 µg/mL (diluições seriais 1:2). As CIMs foram registradas como as menores concentrações para a inibição do crescimento. A concentração inibitória mínima dos antimicrobianos foi determinada em BHI pelos testes de microdiluição, utilizando suspensão de 10⁵ UFC/mL de uma faixa de concentração da droga de 2500 para 2 µg/mL (dupla diluição seriada) para os antibacterianos e uma variação dos antifúngicos entre 1024-0,5 µg/mL.²⁵ A CIM foi definida como a menor concentração que não houve crescimento. Para a avaliação dos extratos como moduladores da resistência aos antimicrobianos, o MIC dos antimicrobianos foi determinada na presença ou ausência de EHCC e EHFC em concentrações sub-inibitórias (8mg / mL) e as placas foram incubadas por 24 h a 37 °C.

RESULTADOS

As tabelas 2 e 3 mostram a CIM dos extratos e o efeito potencializador em combinação com antimicrobianos. Os extratos hexânicos do caule e da folha obtiveram o mesmo resultado de $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ para as atividades antibacterianas e

antifúngicas. Na atividade moduladora com as bactérias, observaram-se resultados significativos com todos os antibióticos. Com a *Staphylococcus aureus* foi verificado uma modulação sinérgica para os dois tipos de extratos usados. Na modulação com a *Escherichia coli* obteve-se um bom resultado apenas para a amicacina com o extrato hexânico do caule. Já para a *Pseudomonas aeruginosa* não foi obtido nenhum resultado relevante. Na atividade moduladora com os antifúngicos, foi observado sinergismo na *Candida albicans* com a nistatina, para o extrato hexânico do caule de *Costus cf.* Foi observada uma potencialização dos extratos hexânicos do caule e da folha com o antifúngico nistatina para *Candida krusei*. Para a *Candida tropicalis* não foi obtido nenhuma atividade moduladora.

Tabela 2. Valores das CIMs ($\mu\text{g/mL}$) dos aminoglicosídeos na ausência e na presença dos extratos EHCC e EHFC com *E. coli* 27, *S. aureus* 358 e *P. aeruginosa* 03

	EC 27 CIM	CIM combinado		SA 358 CIM	CIM combinado		PA 03 CIM	CIM combinado	
		+EHCC	+EHFC		+EHCC	+EHFC			
Amicacina	9,76	2,44	9,76	156,25	9,76	9,76	625	625	625
Neomicina	9,76	9,76	9,76	78,12	312,5	2,44	625	625	625
Gentamicina	2,44	2,44	2,44	312,5	2,44	2,44	1250	1250	1250
EHCC	≥ 1024	-	-	≥ 1024	-	-	≥ 1024	-	-
EHFC	≥ 1024	-	-	≥ 1024	-	-	≥ 1024	-	-

EHCC- Extrato hexânico do caule de *Costus cf. arabicus*; EHFC- Extrato hexânico da folha de *Costus cf. arabicus*; EC- *Escherichia coli*; SA- *Staphylococcus aureus*; PA- *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabela 3. Valores das CIMs ($\mu\text{g/mL}$) dos antifúngicos na ausência e na presença dos extratos EHCC e EHFC com *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*

	CA CIM	CIM combinado		CT CIM	CIM combinado		CK CIM	CIM combinado	
		+EHCC	+EHFC		+EHCC	+EHFC			
Nistatina	≥ 1024	≥ 1024	4	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	64	64
Mebendazol	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024
Anfotericina B	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024
Benzoil metronidazol	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024	≥ 1024
EHCC	≥ 1024	-	-	≥ 1024	-	-	≥ 1024	-	-
EHFC	≥ 1024	-	-	≥ 1024	-	-	≥ 1024	-	-

EHCC- Extrato hexânico do caule de *Costus cf. arabicus*; EHFC- Extrato hexânico da folha de *Costus cf. arabicus*; - CA- *Candida albicans*; CT- *Candida tropicalis*; CK- *Candida krusei*.

DISCUSSÃO

Nos últimos anos tem habido um grande interesse científico em investigações químicas e farmacológicas sobre as propriedades biológicas de plantas medicinais.²⁶⁻³¹ O uso de extratos como agentes antimicrobianos, apresenta um baixo risco de aumento da resistência microbiana a sua ação, porque são misturas complexas, fazendo com que haja maiores dificuldades para adaptabilidade microbiana e conseqüentemente, menor probabilidade de geração de linhagens resistentes.¹⁴ Além da atividade antibacteriana direta, os produtos naturais têm

sido estudados também como agentes moduladores da atividade antibiótica, aumentando a atividade de antibióticos contra bactérias resistentes a estas drogas.³¹

Vários componentes de extratos podem aumentar a permeabilidade da membrana célula, aumentando a penetração de antibióticos, principalmente compostos apolares como taninos, flavonóides e terpenos, todos com diversos relatos de atividade biológica.³²

Além de aumentar a permeabilidade celular aos antibióticos, os produtos naturais podem ainda interferir nos sistemas enzimáticos das bactérias que estão integrados a membrana celular, sejam eles os mecanismos de produção de energia (fosforilação oxidativa) ou sistemas de efluxo.^{32,33} Estes efeitos podem ser obtidos pela combinação de antibióticos com extrato à concentração sub-inibitória aplicada diretamente ao meio de cultura.³⁴

Portanto, é sugerido que o extrato de *Costus cf.* pode ser utilizado como uma fonte de produtos naturais na terapêutica antimicrobiana no combate a multirresistência bacteriana e fúngica.

REFERÊNCIAS

1. Murray PR. Laboratory Procedures for Epidemiologic Analysis. In: Manual of Clinical Microbiology. 6. ed., Washington: ASM Press; 1995.
2. Palleroni NJ. *Pseudomonas*, classification: a new case history in the taxonomy of gram-negative bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1993; 64(3-4):231-51.
3. Nostro A, Blanco AR, Cannatelli MA, Enea V, Flamini G, Morelli I. Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS Microbiology Letter*. 2004;230(2):191-5.
4. Coutinho HDM, Costa JGM, Siqueira Jr JP, Lima EO. Effect of *Momordica charantia* L. in the resistance to aminoglycosides in ethicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2009; 33(6):467-71.
5. Verhoef J, Beaujean D, Blok H, Baars A, Meyler, A, Werken VDC. A Ducht approach to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *European Journal of Clinical Microbiol & Infectious Diseases*. 1999;18(7):461-6.
6. Konowalchuk J, Speirs JI, Stavric S. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*. 1977;18(3):775-9.
7. Konowalchuk J, Dickie NS, Stavric S, Speirs JI. Properties of an *Escherichia coli* cytotoxin. *Infection and Immunity*. 1978;20(2):575-7.
8. Scotland SM, Day NP, Willshaw GA, Rowe B. Cytotoxic enteropathogenic *Escherichia coli*. *Lancet*. 1980;1(8159):90.
9. Hughes C, Muller D, Hacher J, Goebel W. Genetics and pathogenic role of *Escherichia coli* haemolysin. *Toxicon*. 1982;20(1):247-52.

10. Sidrim JJC, Moreira JLB. Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.
11. Georgopapadaku NH. Infectious disease 2001: drug resistance, new drugs. Drug Resistance Updates. 2005;5(5):181-91.
12. Dancer SJ. The problem with cephalosporins. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001;48(4):463-78.
13. Coutinho HDM, Cordeiro LN, Bringel KP. Antibiotic resistance of pathogenic bacteria isolated from the population of Juazeiro do Norte - Ceará. Revista Brasileira de Ciências da Saúde. 2005;9(1):127-38.
14. Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacte michiganensis* subsp. *michiganensis*. Crop Protection. 2003;22(1):39-4.
15. Araujo FP, Oliveira PE. Biologia floral de *Costus spiralis* (Jacq.) Roscoe (Costaceae) e mecanismos para evitar a autopolinização. Revista Brasileira de Botânica. 2007;30(1):61-70.
16. Maas PJM. *Costoidae* (Zingiberaceae). Flora Neotropica, Monograph nº 8. New York: Hafner; 1972
17. Stevenson DWM, Stevenson JW. Costaceae (*Costus* Family). In Flowering Plants of The Neotropics. Princeton: Princ Univer Press; 2004.
18. Albuquerque JM. Plantas Mediciniais de Uso Popular. Brasília:ABEAS; 1989.
19. Van den Berg ME. Plantas Mediciniais na Amazônia- Contribuição ao seu conhecimento sistemático. Belém: Museu Paranaense Emílio Goeldi; 1993.
20. Corrêa AD, Siqueira-Batista R, Quintas LE. Plantas Mediciniais do Cultivo à terapêutica. Petrópolis: Ed. Vozes 1998.
21. Corrêa MP. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura IBDF;1984
22. Vieira LS, Albuquerque JM. Fitoterapia Tropical - Manual de Plantas Mediciniais. Belém: FCAP - Serviço e Documentação e Informação; 1998.
23. Mors WB, Rizzini CT, Pereira NA. Medicinal Plants of Brazil. Michigan: Reference Publications, Incorporated Algonac;2000.
24. Boorhem RL. Segredos e Virtudes das Plantas Mediciniais. Rio de Janeiro: Reader's Digest Brasil Ltda.;1999.
25. Javadpour MM, Juban MM, Lo WC, Bishop SM, Alberty JB, Cowell SM. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. Journal of Medicinal Chemistry. 1996; 39(16):3107-13.
26. Saúde-Guimarães DA, Faria AR. Natural compounds with anti-Trypanossoma cruzi activity. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2007;17(3):455-65.

27. Barbosa-filho JM, Nascimento-Júnior FA, Tomaz ACA, Athayde-Filho PF, Silva MS, Cunha EVL. Natural products with antileprotic activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2007;17(1):141-8.
28. Biavatti M, Marensi V, Leite SN, Reis A. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2007;17(4):640-53.
29. Oliveira FQ, Gobira B, Guimarães C, Batista J, Barreto M, Souza M. Plants species indicated in odontology. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2007;17(3):466-76.
30. Barbosa Filho JM, Alencar AA, Nunes XP, Tomaz ACA, Sena-Filho JG, Athayde-Filho PF. Sources of alpha-,beta-, gamma-, delta- and epsilon-carotenes: A twentieth century review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2008;18(1):135-54.
31. Coutinho HDM, Costa JGM, Lima EO, Falcão-Silva VS, Siqueira JR JP. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. *Chemotherapy*. 2008;54(4):328-30.
32. Matias EFF, Alves EF, Santos BS, Souza CES, Ferreira JVA, Lavor AKLS, Figueredo FG, Lima LF, Santos FAV, Peixoto FSN, Colares AV, Boligon AA, Saraiva RA, Athayde ML, Rocha JBT, Menezes IRA, Coutinho HDM, Costa JGM. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013;2013(1):1-7.
33. Wendakoon C, Sakaguchi M. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food Protection*. 1995;58(3):280-3.
34. Coutinho HDM, Costa JGM, Siqueira Jr JP, Lima EO. In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-MRSA strains. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2008;18(suppl.):670-5.

Recibido: 20 de abril de 2013.

Aprobado: 2 de diciembre de 2013.

PhD. Henrique D.M. Coutinho. Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri- URCA, Crato(CE), Brasil. Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta, 63105000. Fone: +55(88)31021212; Fax: +55(88)31021291. Correo electrónico: hdmcoutinho@gmail.com