

Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato bruto hidroalcoólico de *Mangifera indica* Linneau

Evaluation of *in vitro* antimicrobial activity of a crude hydroalcoholic extract from *Mangifera indica* Linneau

Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto hidroalcohólico bruto *Mangifera indica* Linneau

Lic. Ana Paula Meneses Garcia, Dr. José Fábio França Orlanda

Departamento de Química e Biologia, Laboratório de Biotecnologia Ambiental, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Campus de Imperatriz - LABITEC, 65901-480, Imperatriz - MA, Brasil.

RESUMO

Introdução: os produtos naturais extraídos de plantas exercem um papel importante no processo de descoberta de fármacos, sejam como modelos estruturais para a síntese de moléculas novas ou pelas suas propriedades farmacológicas. Uma planta medicinal bastante utilizada é a *Mangifera indica* Linneau pertencente à família Anacardiácea, popularmente conhecida por manga, que é utilizada no tratamento de infecções sem comprovação científica da sua eficiência.

Objetivo: avaliar a composição fitoquímica e a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de *Mangifera indica* L. *in vitro* pelo método de difusão em disco.

Métodos: o extrato bruto foi preparado utilizando droga vegetal das folhas secas com maceração durante 15 dias, na proporção de 30 g para 300 mL de etanol a 95 %. Após filtração, o extrato foi concentrado e seco para obtenção do extrato etanólico bruto. A atividade antimicrobiana foi verificada pelo método de difusão em disco no meio gelosado Müller Hinton, de acordo com a Norma M07-A8. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos em milímetro (mm) do diâmetro dos halos de inibição formado ao redor dos discos nas três repetições.

Resultados: os resultados mostraram que o extrato hidroalcoólico bruto de *Mangifera indica* apresentou atividade antimicrobiana *in vitro* frente à cepa de *S. aureus*, com concentração inibitória mínima (MIC) de 1,0 µg.disco⁻¹. Entretanto, não apresentou atividade antimicrobiana frente às bactérias Gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. typhi*).

Conclusão: o extrato hidroalcoólico bruto de *Mangifera indica* L. apresenta atividade antimicrobiana frente ao *S. aureus*, fornecendo evidência científica e potencial de uso terapêutico.

Palavras-chave: *Mangifera indica* L., bactérias patogênicas, atividade antibacteriana.

ABSTRACT

Introduction: natural products obtained from plants play an important role in the process of discovery of new drugs, either as structural models for the synthesis of new molecules or due to their pharmacological properties. A widely used medicinal plant is *Mangifera indica* Linneau, of the family Anacardiaceae. Popularly known as 'mango', it is used to treat infection, though its effect has not been scientifically validated.

Objective: evaluate the phytochemical composition and antimicrobial activity *in vitro* of the hydroalcoholic extract from *Mangifera indica* L. using the disk diffusion method.

Methods: the crude extract was prepared from dry leaves macerated for 15 days at a proportion of 30 g to 300 ml of 95 % ethanol. After filtration, the extract was concentrated and dried to obtain the crude ethanol extract. Antimicrobial activity was determined by the disc diffusion method on Mueller-Hinton agar medium, in compliance with Standard M07-A8. Tests were performed in triplicate and results were expressed in millimeters (mm). The diameter of inhibition areas around the discs is formed in three replicates.

Results: results show that the crude hydroalcoholic extract from *M. indica* had antimicrobial activity *in vitro* against the *S. aureus* strain with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 1.0 µg.disc⁻¹. No antimicrobial activity was observed against gram-negative bacteria (*E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. typhi*).

Conclusion: the crude hydroalcoholic extract from *Mangifera indica* L. displayed antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, providing scientific evidence for its potential therapeutic use.

Key words: *Mangifera indica* L., pathogenic bacteria, antibacterial activity.

RESUMEN

Introducción: los productos naturales a partir de plantas ejercen un papel importante en el proceso de descubrimiento de fármacos, sea como modelos estructurales para la síntesis de nuevas moléculas o por sus propiedades farmacológicas. Una planta medicinal ampliamente utilizada es la *Mangifera indica* Linneau que pertenece a la familia Anacardiácea, popularmente conocida como manga y es utilizada en el tratamiento de infecciones, sin validación científica de su efecto.

Objetivo: evaluar la composición fitoquímica y la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Mangifera indica* L. *in vitro* por el método de difusión en disco.

Métodos: el extracto crudo se preparó usando hojas secas de la planta de maceración vegetal durante 15 días a una proporción de 30 g a 300 ml de etanol al 95 %.

Después de la filtración, el extracto se concentró y se secó para obtener el extracto de etanol crudo. La actividad antimicrobiana se determinó por el método de difusión en disco en Müller Hinton en medio gelosado, de acuerdo con la Norma M07-A8.

Las pruebas se realizaron por triplicado y los resultados se expresan en milímetros (mm). El diámetro de zonas de inhibición alrededor de los discos se forman en tres repeticiones.

Resultados: los resultados mostraron que el extracto hidroalcohólico crudo de *M. indica* tuvo actividad antimicrobiana *in vitro* frente a la cepa de *S. aureus* con una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 1,0 µg.disco⁻¹. No presentó actividad antimicrobiana frente a las bacterias Gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. typhi*).

Conclusión: el extracto hidroalcohólico crudo de *Mangifera indica* L. presentó actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, lo que aporta evidencia científica y su posible uso en la terapéutica.

Palabras clave: *Mangifera indica* L., bacterias patógenas, actividad antibacteriana.

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade.¹ O conhecimento das propriedades curativas destas plantas foi adquirido de forma totalmente empírica, e transmitido através do tempo, como a única forma de conhecimento disponível sobre as suas propriedades medicinais.^{2,3}

Dentre as plantas com propriedades medicinais, encontramos a espécie *Mangifera indica* Linneau conhecida, popularmente, como manga e pertencente à família Anacardiácea. É uma planta nativa da Ásia tropical, muito consumida e cultivada nos trópicos e regiões subtropicais do mundo.⁴ Na medicina popular é recomendada no tratamento das bronquites crônicas e outras afecções do peito, disenteria, hemorragias intestinais, diurético e estimulante da função láctea. As folhas são adstringentes e as sementes possuem propriedades anti-helmínticas.⁵ Com os frutos prestes a amadurecer faz-se doce estomáquico, útil na cura da debilidade ou atonia dos órgãos gastrointestinais.⁶

Nos últimos anos, o conhecimento sobre o potencial terapêutico de plantas com atividade antimicrobiana tem despertado o interesse científico, buscando novos caminhos para o controle e tratamento de diversas doenças.^{7,8} Os desafios no tratamento de doenças infecciosas vêm crescendo de forma significativa, tendo em vista que bactérias resistentes a múltiplos antimicrobianos representam fonte de incertezas para a cura desses contágios, havendo a necessidade de se buscar novas fontes alternativas com propriedades antibióticas que sejam mais eficientes no combate a infecções principalmente as bacterianas.⁹

Assim, o presente artigo tem como objetivo investigar os constituintes fitoquímicos e a ação antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de *M. indica*, frente ao crescimento de bactérias patogênicas.

MATERIAL E MÉTODO

Coleta e identificação do material vegetal

O material botânico foi coletado em maio de 2012, nas dependências da Universidade Estadual do Maranhão, Campus de Imperatriz, situado no município de Imperatriz, Maranhão e encaminhadas ao Laboratório de Biotecnologia Ambiental (LABITEC). A identificação da espécie foi realizada pelo botânico Marcelo Francisco da Silva, Professor do Centro de Estudos Superiores de Imperatriz (CESI-UEMA). Uma exsicata encontra-se depositada no Herbário dessa universidade, sob o número de registro 0087/2012.

Obtenção dos extratos brutos e prospecção fitoquímica preliminar

As folhas foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C. Em seguida foram pulverizadas em moinho de facas, para facilitar a extração de seus constituintes químicos. O extrato bruto foi preparado através do método de maceração a frio durante 15 dias, utilizando-se a proporção de 1:3, sendo 1 g de cada estrutura vegetal triturada para 3 mL de etanol (Merck) a 85 % (v/v). O extrato foi filtrado em papel filtro qualitativo (Quanty, ref. nº JP42) empregando sistema de vácuo (Marconi, MA 057/1) e concentrados através do evaporador rotativo (Tecnal TE-211) a 40 °C, sob pressão reduzida. Em seguida foi seco em estufa a 40 °C (Labconco, Freezone 4.5) para eliminação total do solvente.¹⁰ O extrato foi armazenado em frasco âmbar e conservado no dessecador até serem submetidos aos bioensaios e à prospecção química.¹¹

O extrato foi submetido a uma investigação dos constituintes químicos por classe metabólica. Os principais constituintes químicos analisados foram: saponinas, açúcares redutores, proteínas e aminoácidos, alcalóides, polissacarídeos, fenóis e taninos, flavonóides, purinas, glicosídeos cardíacos, catequinas, sesquiterpenolactonas e outras lactonas, esteróides e tripernóides, depsídeos e depsidonas, antraquinonas e purinas.¹¹⁻¹³

Microrganismos

As linhagens bacterianas usadas neste estudo foram cepas padrões de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145), *Salmonella typhi* (ATCC 566K) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). As linhagens foram mantidas para crescimento em meio Müller-Hinton (AMH) por 24 horas a 37 °C sendo transferidas para meios líquidos BHI (Infuso cérebro coração - Brain Heart Infusion) para testes de atividade antimicrobiana. Os microrganismos selecionados são padrões para testes de suscetibilidade antimicrobiana, responsáveis por infecções em humanos e apresentam elevada resistência aos antimicrobianos comerciais.

Avaliação da atividade antimicrobiana

O ensaio antimicrobiano foi realizado através do método de difusão em disco, com base Norma M07-A8,¹⁴ onde cada disco estéril de papel filtro (Qualit, ref. nº 045.PF) de 6,0 mm de diâmetro foi impregnado com alíquotas (10 µL) dos extratos

nas concentrações de 10 a 500 $\mu\text{g}\cdot\text{disco}^{-1}$.¹⁵ No teste controle negativo foi aplicado 10 μL de dimetilsulfóxido (DMSO) (Merck), utilizado na ressuspensão dos extratos, e como controle positivo foi usado o antibiótico clorafenicol (30 $\mu\text{g}\cdot\text{disco}^{-1}$) (Sensibiodisc, Cecon). O inóculo bacteriano foi preparado por suspensão direta em solução salina (0,9 %), a partir de cultura de 24 h em BHI. A suspensão foi ajustada através da escala padrão 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹), sendo semeada em placa de Petri (90 mm de diâmetro) contendo ágar Mueller-Hinton (MHA, Himedia). Um conjunto predeterminado de discos de extratos vegetais foi colocado na superfície do AMH.

As placas foram incubadas na estufa a 37 °C por 24 h. Após o período de incubação foi realizada a leitura do diâmetro dos halos de inibição total de crescimento bacteriano, incluindo o diâmetro do disco. Os halos foram medidos em milímetro com auxílio de paquímetro.

Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada, para os extratos que exibiram melhores atividades antibióticas, pelo método de diluições seriada em meio sólido.¹⁶ Alíquotas de diferentes volumes (1,0, 0,5, 0,25, 0,125, 0,06 e 0,03 mL) de uma solução a 20,000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ foram colocadas em placa de Petri e homogeneizadas com 10 mL do meio de cultura ideal para o crescimento de cada microrganismo. Em seguida foram semeados, em estrias, sobre a superfície do meio e as placas foram incubadas a 37 °C e 30 °C por 24 h e 48 h. Valores de CIM iguais ou superiores a 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ não foram considerados satisfatórios.¹⁷

Análise estatística

Na análise estatística dos dados foram utilizados o teste de Kruskal-Wallis, de Mann-Whitney U e o teste de comparações múltiplas de Dunn. Os testes foram considerados significantes quando o valor *P* foi menor que 0,05. No teste de comparações múltiplas de Dunn foi adotado o nível global de significância de 0,05.

RESULTADOS

A triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas e caule de *M. indica* obtido da planta seca indicou a presença de saponinas, alcalóides, açúcares redutores, flavonóides, fenóis e taninos, esteróides e triterpenóides (Tabela 1).

Os extratos brutos de *M. indica* em diferentes concentrações apresentaram atividade antibacteriana (inativação e/ou ativação) seletiva sobre diferentes bactérias, como mostra a Tabela 2.

Os extratos hidroalcoólicos apresentaram capacidades de inibir o crescimento das cepas ATCC em todas as concentrações utilizadas (Tabela 2), sendo mais eficiente para a bactéria Gram-positiva, a partir da concentração de 10 $\mu\text{g}\cdot\text{disco}^{-1}$.

Os controles utilizados para a avaliação do desempenho dos ensaios corresponderam satisfatoriamente. O DMSO utilizado como controle negativo não inibiu o crescimento das cepas padrão e o antibiótico clorafenicol apresentou halos de inibição de acordo ao perfil de sensibilidade,¹⁴ como mostra a Tabela 2.

Neste estudo foi observado aumento da resposta inibitória com o aumento das concentrações do extrato, com a exceção das cepas de bactérias Gram-negativas,

que apesar do aumento não houve alteração nos valores dos halos de inibição. Esse efeito pode estar relacionado ao processo de sinergismo, onde o componente com propriedade antimicrobiana pode ter se agregado a um elemento químico do extrato, beneficiando metabolicamente o crescimento bacteriano ou inibindo a ação antimicrobiana da molécula.

A concentração inibitória mínima do extrato da folha de *M. indica* apresentou o melhor desempenho para inibir o crescimento da cepa de *S. aureus* na concentração de 1,0 µg.disco⁻¹.

Este estudo fornece resultados que demonstram a eficácia do extrato etanólico de *M. indica*. Entretanto, são necessários outros estudos, inclusive, empregando outras metodologias, com o intuito de assegurar os resultados aqui encontrados e fornecer substâncias com atividade antibacteriana *in vitro* frente a microrganismos patogênicos.

Tabela 1. Classes de metabólitos secundários identificados no extrato bruto de *M. indica*

Classes de Metabólitos Secundários	Extrato Seco
Açúcares redutores	+
Alcalóides (Reativo de Bouchardat)	+
Alcalóides (Reativo de Dragendorff)	+
Alcalóides (reativo de Mayer)	+
Antraquinonas	+
Catequinas	-
Esteróides e triterpenóides	+
Fenóis e taninos	+
Flavonóides	+
Polissacarídeos	-
Proteínas e aminoácidos	-
Purinas	-
Saponinas	+
Sesquiterpenolactonas e outras lactonas	-

Tabela 2. Média e desvio padrão dos halos de inibição (mm) obtidos pelo método de difusão em disco com os extratos brutos de *M. indica* frente as cepas padrão

Microrganismos	Concentração ($\mu\text{g}.\text{disco}^{-1}$)	ES		CP	CN
		MA	DP	MA	MA
<i>E. coli</i>	10	5,20	$\pm 0,00$	17,0	0,00
	30	8,30	$\pm 0,03$		0,00
	60	12,0	$\pm 0,08$		0,00
	90	12,0	$\pm 0,01$		0,00
	100	12,0	$\pm 0,06$		0,00
	500	12,0	$\pm 0,04$		0,00
<i>P. aeruginosa</i>	10	3,50	$\pm 0,00$	14,2	0,00
	30	5,60	$\pm 0,01$		0,00
	60	8,70	$\pm 0,00$		0,00
	90	8,70	$\pm 0,00$		0,00
	100	8,70	$\pm 0,02$		0,00
	500	8,60	$\pm 0,01$		0,00
<i>S. aureus</i>	10	11,90	$\pm 0,00$	19,0	0,00
	30	18,70	$\pm 0,00$		0,00
	60	21,40	$\pm 0,02$		0,00
	90	23,85	$\pm 0,06$		0,00
	100	26,30	$\pm 0,05$		0,00
	500	29,70	$\pm 0,00$		0,00
<i>S. typhi</i>	10	8,0	$\pm 0,01$	18,0	0,00
	30	8,50	$\pm 0,05$		0,00
	60	9,20	$\pm 0,02$		0,00
	90	9,20	$\pm 0,05$		0,00
	100	9,20	$\pm 0,00$		0,00
	500	9,20	$\pm 0,04$		0,00

* Halos de inibição incluindo o diâmetro do disco (6 mm); ES extrato seco; MA média aritmética do diâmetro do halo de inibição bacteriana; DP desvio padrão do diâmetro do halo de inibição bacteriana; CP Controle positivo; CLO clorafenicol ($30 \mu\text{g}.\text{disco}^{-1}$); CN controle negativo DMSO dimetilsulfóxido.

DISCUSSÃO

As plantas medicinais têm sido utilizadas como agentes antimicrobianos considerando sua composição e potencial de inibição, uma vez que existe forte tendência para o uso quando aplicadas metodologias capazes de comprovar a eficácia frente aos malefícios provenientes de microrganismos patogênicos.

Os ensaios de atividade antimicrobiana *in vitro* mostraram que a aplicação da medicina popular, representa uma fonte de descoberta para inúmeros fármacos, além de pesquisas relacionadas à procura de atributos terapêuticos trazidas por

estas, formando importante ferramenta para elucidação científica das propriedades curativas direcionando a informações científicas para o uso seguro e adequado de plantas e seus derivados.¹⁻³

Os resultados obtidos evidenciaram que o potencial de inibição bacteriana do extrato hidroalcoólico de *M. indica* foi menos eficiente para as cepas de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. typhi*. Com exceção para o *S. aureus* que apresentou atividade antimicrobiana bastante elevada.^{15,18}

É provável que esta diferença de atividade antimicrobiana esteja relacionada não só a atividade biológica dos produtos testados, mas também devido a presença de uma das estruturas da membrana externa das bactérias Gram-negativas, que pode impedir a passagem de moléculas através desta membrana, além de particularidades relacionadas aos diferentes mecanismos de resistência das linhagens em estudo.^{19,20}

A ação antimicrobiana é ocasionada por efeitos tóxicos contra a membrana citoplasmática dos microrganismos. A hidrofobicidade dessas moléculas as possibilita se particionarem nas membranas celulares dos microrganismos, alterando suas funções e as deixando mais permeáveis. Sendo assim, o efeito como perturbação da membrana citoplasmática, ruptura do fluxo de elétrons, alteração no transporte de moléculas através da membrana, inibição de atividade de certas enzimas e coagulação do conteúdo citoplasmático são alguns mecanismos envolvidos na promoção do poder antimicrobianos descritos na literatura.²¹

Os resultados são promissores para o seguimento das investigações desta espécie de planta frente aos microrganismos testados a fim de determinar a concentração inibitória mínima e realizar testes pré-clínicos e clínicos. A menor concentração inibitória (MIC) encontrada foi de 1,0 µg.disco⁻¹ para o *S. aureus*; 20,0 µg.disco⁻¹ para *E. coli*, 60 µg.disco⁻¹ para *P. aeruginosa* e 8,0 µg.disco⁻¹ para *S. typhi*.

A presença de determinados constituintes fitoquímicos (alcaloides, fenóis e taninos, saponinas, esteroides e triterpenóides e antraquinonas) encontrados no extrato de *M. indica* exercem uma ação antimicrobiana. Os fenóis e taninos possuindo uma ação antiséptica, por origem da sua ação adstringente, agindo também como antihemorrágicos, antidiarreicos e cicatrizantes.²² Os flavonóides são indicados como espasmolíticos, antiinflamatórios, anticarcinogênicos, antialérgicos, antiulcerogênicos, antivariicosos, diuréticos, antiviróticos, antioxidantes, antimicrobianos e também fungistáticos.²³

Na família Anacardiaceae, já se apresentam alguns resultados na literatura com a utilização do extrato de *Anacardium occidentale* L. frente a bactérias gram-positivas: *Proteus morgani*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhi*, obtendo atividade antibacteriana em altas concentrações.²⁴ Em outros trabalhos o cajueiro demonstrou ser eficaz, sobre espécies de *Streptococcus*.²⁵

Alguns pesquisadores já utilizaram propriedades antimicrobianas extraídas de plantas, como a *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. (Jabuticabeira), *Ottonia martiana* Miq. (Piperaceae), *Psidium guajava* L., que revelaram bons resultados frente a microrganismos patogênicos.²⁶

Este estudo demonstrou o potencial antibacteriano do extrato hidroalcoólico bruto de *Mangifera indica* Linneau no tratamento frente ao *Staphylococcus aureus*. Embora os resultados obtidos sejam importantes para o conhecimento farmacológico dessa espécie, é prudente termos cautela no uso dessa planta, e se faz necessário um aprofundamento no conhecimento de seus constituintes, para um uso seguro e eficaz.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Prof. Marcelo Francisco da Silva pela identificação e caracterização da espécie vegetal.

REFERÊNCIAS

1. Oliveira CJ, Araújo TL. Plantas medicinais: usos e crenças de idosos portadores de hipertensão arterial. *Revista Eletrônica de Enfermagem*. 2007;9(1):93-105.
2. Silveira LMS, Olea RSG, Mesquita JS, Cruz ALN, Mendes JC. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. *Revista Brasileira de Farmácia*. 2009;90(2):124-128.
3. Salvagnini LE, Oliveira JRS, Santos LE, Moreira RR, Pietro RCLR. Avaliação da atividade antibacteriana de folhas de *Myrtus communis* L. (Myrtaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia, Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2008;18(2):241-244.
4. Pitchaon M. Antioxidant capacity of extracts and fractions from mango (*Mangifera indica* Linn.) seed kernels. *International Food Research Journal*. 2011;18(1):523-528.
5. Braga R. Plantas do nordeste - Especialmente do Ceará. 5a ed. Ceará, Brasil: Coleção Mossoroense; 2001.p. 204
6. Costa CTC, Morais SM, Bevilaqua CML, Souza MMC, Leite FKA. Efeito ovicida de extratos de sementes de *Mangifera indica* L. sobre *Haemonchus contortus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2002;11(2):57-60.
7. Ferreira FS, Santos SC, Barros TF, Rossi-Alva JC, Fernandez LG. Atividade antibacteriana in vitro de extratos de *Rhizophora mangle* L. *Rev. Bras. Plantas Med*. 2011;13(3):305-310.
8. Bispo NJ, Francisco NMAC, Schmitt AC. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro dos extratos da planta *Guettarda angelica* sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. *LAES & HAES*. 2007;168(1):165-169.
9. Silva GJ, Souza IA, Higino JS, Siqueira-Junior JP, Pereira JV, Pereira MV. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2007;17(4):572-577.
10. Santos SC, Ferreira FS, Damião AO, Damião AO, Barros TF, Rossi-Alva JC, et al. Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos de *Avicennia schaueriana* Stapf & Leechm. Ex Moldenke, Verbenaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2010;20(1):124-129.
11. Braga FG, Bouzada MLM, Fabri RL, Matos MO, Moreira FO, Scio E, et al. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;111(2):396-402.
12. Barbosa WLR, Quinard E, Tavares ICC, Pinto LN, Oliveira FQ, Oliveira RM. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. 2 ed. *Revista Científica da UFPA*, 2004.p. 19.
13. Matos FJA. Introdução a fitoquímica experimental. 2ª ed. Fortaleza, Brasil: UFC;1997. p. 141.

14. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard. 4^a ed. Wayne, Pennsylvania: CLSI. 2009. p. 99.
15. Santos SC, Ferreira FS, Rossi-Alva JC, Fernandez LG. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato de *Abarema cochliocarpos* (Gomes) Barneby & Grimes. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2007;17(2):215-2159.
16. Carvalho AAT, Sampaio MCC, Sampaio FC, Melo AFM, Sena KXFR, Chiappeta AA, et al. Atividade antimicrobiana in vitro de extratos hidroalcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre bactérias gram-negativas. Acta Farmacêutica Bonaerense. 2002;21(4):255-258.
17. Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DAG, Nakamura CV Dias Filho BP. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002;97(7):1027-1031.
18. Parekh J, Chanda SV. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. Turk J. Biol. 2007;31(1):53-58.
19. França HS, Kuster RM, Rito PN, Oliveira AP, Teixeira LA, Rocha L. Atividade antibacteriana de floroglucínóis e de extrato hexânico de *Hypericum brasiliense* Choysi. Quim. Nova. 2009;32(5):1103-1106.
20. Reichling J, Koch C, Stahl-Biskup E, Sojka C, Schnitzler P. Virucidal activity of a beta-triketone-rich essential oil of *Leptospermum scoparium* (manuka oil) against HSV-1 and HSV-2 in cell culture. Planta Med. 2005;71(1):1123-1127.
21. Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington JR, et al. The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Journal Applied. Microbiology. 2000;88(1):170-175.
22. Botsaris AS. Fitoterapia chinesa e plantas brasileiras. São Paulo; Ícone, 2007. p.550
23. Almasy Júnior AA. Folhas de Chá: plantas medicinais na terapêutica humana. Viçosa: UFV, 2005. p 233.
24. Laurens A, Giono B, Sylla DP. Etude de l'action antibacterenne d'extraits d'*Anacardium occidentale* L. Annales Pharmaceutiques Françaises. 1992;40(1):143-146.
25. Melo AFM, Santos EJV, Souza LFC, Carvalho AAT, Pereira MSV, Higino JS. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato de *Anacardium occidentale* L. sobre espécies de *Streptococcus*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2006;16(2):202-205.
26. Macedo-Costa MRM, Diniz DN, Carvalho CMV. Eficácia do extrato de *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. (Jabuticabeira) sobre bactérias orais. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2009;19(2):565-571.

Recibido: 6 de julio de 2013.

Aprobado: 20 de marzo 2014.

Prof. DSc. José Fábio França Orlanda . Departamento de Química e Biologia - Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Campus de Imperatriz - Laboratório de Biotecnologia Ambiental – LABITEC. Endereço: Rua Godofredo Viana, 1300, 65901-480, Imperatriz-MA, Brasil.
Correo electrónico: ffranca@cesi.uema.b