

Atividade antibacteriana e moduladora *in vitro* de extrato metanólico e hexânico de *beta vulgaris* spp. (Linnaeus)

Actividad antibacteriana y modulación *in vitro* de extractos de metanol y hexano del *beta vulgaris* spp. (Linnaeus)

Antibacterial activity and modulatory *in vitro* methanol and ethanol extracts of *beta vulgaris* spp. (Linnaeus)

Maria Aline Ferreira Sobral,^I Raul de Sousa Andreza,^I Erivania Ferreira Alves,^I Ana Jessica Furtado Cruz,^I Amanda Talita Lopes de Sousa,^I Cícera Datiane de Moraes Oliveira,^{II} Saulo Relison Tintino,^{II} Livia Maria Garcia Leandro,^I Pedro Everson Alexandre de Aquino,^{III} Luciene Ferreira de Lima^{II}

^I Faculdade Leão Sampaio. Brasil.

^{II} Universidade Regional do Cariri (URCA). Brasil.

^{III} Universidade Federal do Ceará. Brasil.

RESUMO

Introdução: *Beta vulgaris* spp. conhecida popularmente como beterraba é bastante utilizada, além do consumo alimentar, de maneira etnofarmacológica para o combate de diversas infecções como: dores no trato gastrointestinal, inflamações crônicas, lesões nas genitais, inflamações nos ovários, cólicas, problemas renais, problemas cardíacos e diabetes.

Objetivo: avaliar a atividade antibacteriana e modulatória dos extratos metanólicos e hexânicos dos frutos de *B. vulgaris* frente a cepas bacterianas padrões e multirresistentes, além de determinar as principais classes de metabólitos secundários.

Métodos: os extratos metanólicos e hexânicos de *B. vulgaris* foram analisados para a atividade antibacteriana por meio de teste de microdiluição em caldo para determinação de Concentração Inibitória Mínima e modulação de aminoglicosídeos a gentamicina e amicacina.

Resultados: às cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* diminuíram a

Concentração Inibitória Mínima de 64 µg/mL and 256 µg/mL quando combinadas aos antibióticos e extratos, Apresentando, portanto um efeito de aumento da atividade antibiótica, com exceção para o extrato hexânico em associação com a gentamicina contra cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*.

Conclusão: na prospecção fitoquímica foram evidenciados a presença de vários metabolitos secundários, o que pode explicar a ação bactericida desta planta. Portanto, diante dos resultados, *B. vulgaris* é uma fonte promissora no combate a resistência bacteriana.

Palavras chave: atividade antibacteriana; *Beta vulgaris* spp; modulação; microrganismos patogênicos.

RESUMEN

Introducción: *Beta vulgaris* SSP. conocido em lo popular como remolacha, es muy utilizado, además como consumo de alimentos, de manera etnofarmacológica para combatir varias infecciones como: dolores en el tracto gastrointestinal, inflamaciones crónicas, lesiones genitales, inflamaciones en ovarios, cólicos, problemas renales, diabetes y problemas del corazón.

Objetivo: evaluar la actividad anti-bacteriana y moduladora de extractos metanólicos y hexânicos del fruto de *B. vulgaris* frente de cepas bacterianas multirresistentes estándares y además de determinar los principales metabolitos secundarios.

Métodos: los extractos metanólicos y hexânicos de *B. vulgaris* fueron analizados para la actividad antibacteriana mediante prueba de microdilución en caldo para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria y la modulación de aminoglicósidos gentamicina y amikacina.

Resultados: las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* disminuyeron la Concentración Mínima Inhibitoria de 64 µ g/mL y 256 µ g/mL al combinarlos con antibióticos y los extractos, mostrando así un aumento de la actividad antibiótica. Excepto el extracto hexânico en combinación con la gentamicina contra cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. La fitoquímica evidencia la presencia de varios metabolitos secundarios que pueden explicar la acción bactericida de esta planta.

Conclusión: los resultados de *B. vulgaris* muestran que es una fuente prometedoras en la lucha contra la resistencia bacteriana.

Palabras clave: actividad antibacteriana; *Beta vulgaris* spp; modulación; Microorganismos patógenos.

ABSTRACT

Introduction: *Beta vulgaris* spp. is popularly known as beets, widely used in ethno pharmacological way to fight various infections of the gastrointestinal tract such as pain, chronic inflammation, and sores on the genitals, inflammation of the ovaries, cramps, kidney problems, heart problems and diabetes.

Objective: to evaluate the antibacterial and modulatory activity of methanol extracts of fruits and hexanic of *B. vulgaris* against strains of multiresistant bacterial and standards. In addition, to determining the major classes of secondary metabolites such as flavonoids and tannins.

Methods: Hexane and methanol extracts of *B. vulgaris* were analyzed to antibacterial activity by the broth microdilution test for determination of Minimum Inhibitory Concentration and modulation and aminoglycosides such as amikacin, gentamicin.

Results: the strains relevant of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* decreased Minimum Inhibitory Concentration of 64 mg/mL and 256 mg/mL thereof when combined antibiotic and extracts. Showing, so a enhancement effect of antibiotic activity, except for the hexane extract in combination with gentamicin against multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus*.

Conclusion: in phytochemical were shown the presence of various secondary metabolites, which may explain the bactericidal action of this plant. Therefore, given the results, *B. vulgaris* spp. is a promising source in combat bacterial resistance.

Keywords: Antibacterial activity; *B. vulgaris* spp; Modulation; Pathogenic microorganisms.

INTRODUÇÃO

As plantas medicinais têm sido usadas pela população desde a antiguidade como forma de aliviar ou até curar enfermidades.¹ A maioria das pessoas que usam plantas medicinais acredita que estes são extremamente seguros, somente pelo fato de serem naturais. Isso explica a importância de estudos multidisciplinares envolvendo extratos e óleos essenciais de plantas com propriedades químicas e farmacológicas desconhecidas, para que assim amplie o conhecimento de como agem, quais seus efeitos tóxicos e colaterais.² Com isso, os metabólitos secundários vegetais apresentam grande valor socioeconômico. As substâncias antimicrobianas de plantas são detectadas, principalmente, por meio da sua capacidade de inibir o crescimento de microrganismos.³

Beta vulgaris spp é popularmente conhecida como beterraba, pertencente à família Chenopodiaceae uma hortaliça muito nutritiva, possui forte apelo sensorial, devido à sua cor vermelho-intensa, cor essa que é decorrente da presença das betacianinas são pigmentos vermelhos que, juntamente com as betaxantinas, de coloração amarela, pertencem ao grupo das betalainas.⁴ É bastante utilizada também na formação de esmalte dos dentes, aumenta a resistência dos vasos sanguíneos e auxilia na regulação do trato intestinal, diabetes, gota, hemorroidas e diversas infecções.⁵

Entre os últimos anos a microbiologia vem crescendo quanto ao estudo dos microrganismos patogênicos multirresistentes, em decorrência desse aumento de resistência bacteriana é que é ocasionada a busca de substâncias com caráter antimicrobiano.⁶

Entre as diversas classes de antibióticos, os aminoglicosídeos, são as classes que mais sofre ação de resistência microbiana. Sendo assim, os principais meios de resistências à concentração utilizada do antibiótico, alterações mutagênicas ou estruturais nas enzimas.⁷ Em relação ao crescimento da resistência dos microrganismos patogênicos, é visto que é preciso a utilização de substâncias antimicrobiana mais eficiente e que tragam benefícios aos respectivos pacientes e que ao mesmo tempo não apresente toxicidade.⁸

Nessa perspectiva, esse estudo se propôs a avaliar, *in vitro*, a atividade antibacteriana e moduladora de extratos metanólico e hexânico dos frutos de *B.*

vulgaris frente a cepas de bactérias: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e multirresistentes de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* de linhagem padrão e multirresistente. Avaliou-se também qualitativamente a presença de metabólitos secundários presentes nestes.

MÉTODOS

Material vegetal

Os frutos de *B. vulgaris* sp foram coletadas nas feiras livres no período de Agosto de 2014, no município de Barbalha, Ceará-Brasil.

Material bacteriano

Os microrganismos utilizados nos testes foram obtidos através do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) da Universidade Regional do Cariri (URCA). Foram utilizadas linhagens padrão de bactérias *Escherichia coli* ATCC 10536; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e multirresistentes da espécie *Escherichia coli* EC27 e *Staphylococcus aureus* 358. Com o perfil de resistência indicado na tabela 1. As bactérias multirresistentes são provenientes de ferida cirúrgica e ambas possuem resistência, a *S. aureus* 358 possui resistência a antibióticos nominados oxacilina, gentamicina, tobramicina, amicacina, cefalexina, neomicina, paramomicina, butirosine, sisomicina, netilmicina. A *E. coli*27 é resistente a azitromicina, amoxicilina, ampicilina, amicacina, amoxicilina, cefalexina, cefaclor, cefalotina, ceftazididima, ciprofloxacino, clorafenicol, imipenem, canamicina, sulfametoxazol, tetraciclina, tobramicina. Antes dos ensaios, as linhagens foram cultivadas a 37 °C por 24 h em *Brain Heart Infusion* – BHI (DifcoLaboratoriesLtda).

Tabela 1. Origem bacteriana e perfil de resistência a antibióticos

Bacteria	Origem	Resistência a antibióticos
<i>Staphylococcus aureus</i> 358	Ferida cirúrgica	Oxa, Gen, Tob, Ami, Ca, Neo, Para, But, Sis, Net
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Sensível
<i>Escherichia coli</i> 27	Ferida cirúrgica	Ast, Ax, Amp, Ami, Amox, Ca, Cfc, Cf, Caz, Cip, Clo, Im, Can, Szt, Tet, Tob
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 10536	Sensível

Ast-Azitromicina; Ax- Amoxicilina; Amp-Ampicilina; Ami-Amicacina; Amox-Amoxicilina, Ca-Cefalexina; Cfc- cefaclor; Cf- Cefalotina; Caz-Ceftazididima; Cip-Ciprofloxacino; Clo – Clorafenicol; Im-Imipenem; Can-Canamicina; Szt-Sulfametoxazol, Tet-Tetraciclina; Tob-Tobramicina; Oxa- Oxacilina; Gen-Gentamicina; Neo- Neomicina; Para- Paramomicina; But- Butirosine; Sis-Sisomicina; Net- Netilmicina.

Preparação dos extratos metanólico e hexânico

Para preparação dos extratos foram coletadas as frutas que foram picadas e permaneceram submersas em metanol e hexano separadamente por 72 h. Após esse período, o eluente foi filtrado em papel filtro para separação dos resíduos sólidos e concentrado em condensador rotativo a vácuo e banho-maria (model Q-214M2 – Quimis, Brazil),⁹ obtendo-se rendimentos dos extratos apresentados. Para os testes foram utilizadas soluções preparadas a partir dos extratos sob uma concentração de 10 mg/mL, dissolvidos em DMSO (dimetil sulfóxido), em seguida diluídos com água destilada para uma concentração de 1024 µg/mL.

Teste de atividade antibacteriana

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada em ensaio de microdiluição em caldo¹⁰ utilizando-se um inóculo de 100 µL de cada linhagem (padrão), suspensas em caldo BHI que apresentava uma concentração de 10⁵ UFC/mL em placas de microtitulação com 96 poços, com diluições em série 1/2. Em cada poço foi adicionado 100µL de solução de cada extrato. As concentrações finais dos extratos variaram entre 512 – 8 µg/mL. Para os controles foram utilizados os antibióticos padrões amicacina, gentamicina (Sigma) cujas concentrações finais variaram entre 512 µg/mL – 8,0 µg/mL. As CIMs foram registradas como as menores concentrações para a inibição do crescimento. Após 24 h na estufa a 37 °C, preparou-se uma solução indicadora de resazurina sódica (Sigma) em água destilada estéril na concentração de 0,01 % (p/v), sendo que 20 µL da solução indicadora foram adicionados em cada cavidade e as placas ficaram num período de incubação de 1 h em temperatura ambiente. A mudança de coloração azul para rosa, devido à redução da resazurina, indica o crescimento bacteriano,¹⁰ auxiliando a visualização da CIM, definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano, evidenciado pela cor azul inalterada.

Modulação com os antibióticos

Os extratos foram misturados em caldo BHI 10 % em concentrações subinibitórias, obtidos e determinados após a realização de teste de avaliação da CIM, sendo que para o teste de modulação a concentração da solução de extrato foi reduzida 8 (oito) vezes (CIM/8). A preparação das soluções de antibióticos foi realizada com a adição de água destilada estéril em concentração dobrada (1024 µg/mL) em relação à concentração inicial definida e volumes de 100µL diluídos seriadamente 1:1 em caldo BHI 10 %. Em cada cavidade com 100 µL do meio de cultura continha a suspensão bacteriana (multirresistente) diluída (1:10). Os mesmos controles utilizados na avaliação da CIM para os extratos foram utilizados durante a modulação.¹¹⁻¹² As placas preenchidas foram incubadas a 37 °C por 24 h e após esse período a leitura foi evidenciada pelo uso de resazurina como citado anteriormente no teste de determinação da CIM.

Prospecção Fitoquímica

Os testes fitoquímicos foram utilizados para detectar a presença de metabólitos secundários como: flavonas, flavonóis, xantonas e flavononas foram realizados seguindo o método descrito por *Matos*.¹³ Os testes se baseiam na observação visual da alteração de cor ou formação de precipitado após a adição de reagentes específicos.

Análise estatística dos dados

Os ensaios foram feitos todos em triplicata e expressos como a média geométrica. A análise estatística foi aplicada à análise de variância de duas vias seguido pelo teste de *Bonferroni* utilizando o software *GraphPadPrism* 6.0. Foram considerados relevantes valores com o $p < 0,05$.

RESULTADOS

Após a realização da prospecção fitoquímica foi possível verificar a presença de alguns metabólitos secundários que foram descritos na tabela 2.

Tabela 2. Caracterização fitoquímica dos extratos hexânico e metanólico da *Beta vulgaris* spp

Fitoquímica	EHBV	EMBV
Leucoantocianidas/Catequinas/Flavonas	+	+
Flavonóides	+	+
Flavanonas/Xantonas	+	+
Taninos	-	+
Alcaloides	-	-

Fonte primária:

(+) presença; (-) ausência.

EHBV: Extrato Hexânico da *Beta vulgaris* spp.

EMBV: Extrato metanólico da *Beta vulgaris* spp.

Após os testes para determinação da concentração inibitória foi verificado que houve inibição de crescimento das espécies bacterianas testadas. Obtendo-se os seguintes resultados expressos na tabela 3.

Na associação dos extratos com os aminoglicosídeos (tabela 3 e figuras 1 e 2) foi possível evidenciar sinergismo dos extratos hexânico e metanólico frente à cepa de *S. aureus* 358, quando associado com a amicacina, já na associação deste mesmo antibiótico com os extratos contra *E. coli* 27 houve sinergismo apenas com o extrato metanólico. Efeitos semelhantes foram encontrados na associação dos extratos com a gentamicina exceto contra as cepas de *S. aureus* 358 onde houve um antagonismo para o extrato hexânico. Através dos resultados dos testes de modulação foi possível verificar que o extrato que teve maior ação sobre as espécies bacterianas testadas foi o metanólico (EMBV).

Tabela 3. Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$) dos extratos hexânico e metanólico de *Beta vulgaris.sp* (512 $\mu\text{g/mL}$ a 8 $\mu\text{g/mL}$) e Contração inibitória Mínima dos antibióticos aminoglicosídeos (2500 $\mu\text{g/mL}$ a 4,88 $\mu\text{g/mL}$) na presença e na ausência dos extratos

Bactérias/Antibiótico		CIM do EHBV	CIM do EMBV
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)		64 $\mu\text{g/mL}$	64 $\mu\text{g/mL}$
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)		256 $\mu\text{g/mL}$	256 $\mu\text{g/mL}$
<i>S. aureus</i> - 358	+ HBV	+ EMBV	CIM (Sozinho)
CIM da Amicacina	312,5 $\mu\text{g/mL}$	312,5 $\mu\text{g/mL}$	625 $\mu\text{g/mL}$
CIM da Gentamicina	156,25 $\mu\text{g/mL}$	9,76 $\mu\text{g/mL}$	78,12 $\mu\text{g/mL}$
<i>E.coli</i> -27	+ EHBV	+ EMBV	CIM (Sozinho)
CIM da Amicacina	312,5 $\mu\text{g/mL}$	78,25 $\mu\text{g/mL}$	312,5 $\mu\text{g/mL}$
CIM da Gentamicina	156,25 $\mu\text{g/mL}$	78,25 $\mu\text{g/mL}$	625 $\mu\text{g/mL}$

EHBV: Extrato hexânico da *Beta vulgaris spp.*
 EMBV: Extrato metanólico da *Beta vulgaris spp.*

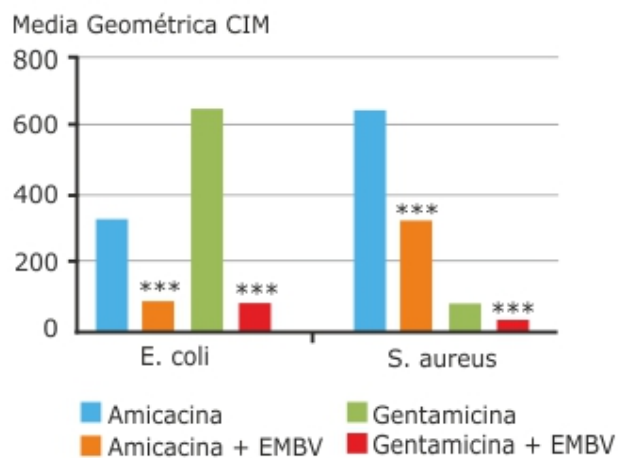


Fig. 1. Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$) de aminoglicosídeos na ausência e presença do EMBV, *Escherichia coli* 27, *Staphylococcus aureus* 358. EMBV - Extrato Metanólico de *Beta vulgaris spp.*
 *** valor estatístico significante $p < 0,001$.

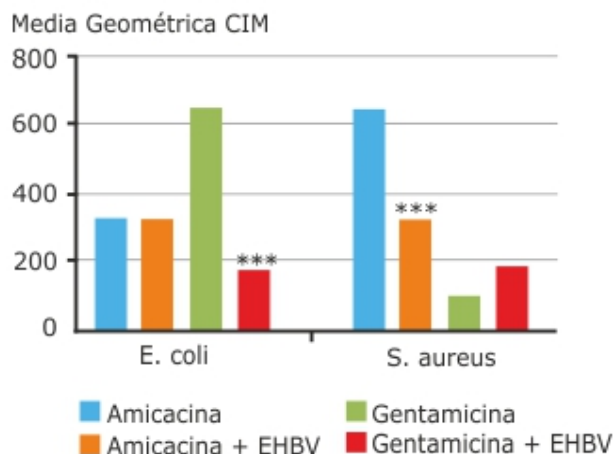


Fig. 2. Concentração inibitória mínima (µg/mL) de aminoglicosídeos na ausência e presença do EHBV, *Escherichia coli* 27, *Staphylococcus aureus* 358. EHBV - Extrato Hexânico de *Beta vulgaris* spp. *** valor estatístico significante $p < 0,001$.

DISCUSSÃO

Dentre as demais classes de metabólitos secundários destaca-se a forte ação microbiana dos flavonóides. As ações biológicas desses metabólitos secundários vegetais destacam-se também na área da farmacologia devido a seus efeitos biológicos sobre a saúde da espécie humana. Os flavonóides são substâncias aromáticas divididos em diferentes classes, como: flavonas, isoflavonas, antocianinas, que possuem atividades antitumorais, anti-inflamatória e antioxidante, além dos relatos de ações antimicrobianas.^{14,15} Já os taninos pertencem a um grupo de compostos fenólicos provenientes do metabolismo secundário das plantas e são definidos como polímeros fenólicos solúveis em água que precipitam proteínas. Fatores estes que favorecem e justificam a atividade antimicrobiana de espécies vegetais.

Em relação às demais classes desses metabólitos foram possíveis detectar a presença de catequinas, flavonas e leucoantocianidinas, que possuem funções antioxidante, anti-inflamatória, além de atividade antibacteriana. Segundo Simões¹⁶ a ausência ou presença de certos constituintes químicos determinados na fitoquímica podem ser explicadas pela época ou horário da colheita, pelo manejo e acondicionamento da planta ou pela degradação dos constituintes por fatores ambientais. Esse fato é importante, pois é nestas condições que revela se a planta está atingindo o seu efeito terapêutico esperado ou não, isso irá depender da presença ou ausência, fator este que pode ter mascarado a presença de alcalóides.

Como a beterraba trata-se de uma planta leguminosa, vale salientar a sua semelhança com o estudo realizado por Guimarães – Beelen¹⁷ onde ele investigou a presença de metabólitos secundários no extrato das folhas de *M. tenuiflora*, conhecida popularmente como Jurema preta. A presença de taninos condensados aparecem em alta concentração nas leguminosas nativas do semi-árido do Nordeste brasileiro, como é o caso das folhas de jurema preta, por isso é possível verificar a presença desses metabólitos em extratos de diferentes solventes.

A capacidade dos produtos naturais em modificar a ação de antimicrobianos pode ser vista a partir de estudos que demonstram que a associação de drogas sintéticas e extratos de plantas podem atuar revertendo à resistência microbiana eliminando plasmídios ou inibindo a bomba de efluxo. Trabalhos com modulação de produtos derivados de plantas com antibióticos, presentes na literatura, mostram resultados semelhantes aos deste estudo, como foi no caso dos estudos de *Turner aulmifolia*, *Momordica charantia*, *Mentha arvensis*, *Sideroxylon obtusifolium*, *Cordia verbenaceae*, *Costus aribicus*.¹⁸⁻²²

Sinergismo é um termo que se refere neste caso, ao uso de plantas ou drogas em combinação, podendo afetar inúmeros sítios de atuação na bactéria, colaborando com o efeito agonista do produto testado.^{23,24}

Uma maior atividade antibacteriana e modulatória deste extrato pode está relacionado com a presença de componentes polares, possivelmente pelo fato de o solvente utilizado para a obtenção do extrato é do tipo polar. *Silveira*²⁵ no seu estudo de frutos de *Syagrus oleracea*, também verificou que o extrato que teve uma a atividade antimicrobiana foi o metanólico.

Os testes demonstraram um aumento na atividade dos aminoglicosídeos tanto de bactérias gram positivas quanto gram negativas quando associadas aos extratos na maioria dos testes. Sabe-se que os aminoglicosídeos atuam bloqueando a subunidade 30s do ribossomo,²⁶ os metabólitos presentes nos extratos podem ter modulado a entrada desse antibiótico na bactéria no mesmo sítio de ligação, ou em alvos diferentes, sendo considerado efetivo o sinergismo da mesma, no entanto esta pesquisa possui limitações para afirmar ao certo, como se deu o sinergismo entre as substâncias.

A possível explicação para o antagonismo apresentado em um dos testes, refere-se a fatores como a quelação do antibiótico ou de ligação dos compostos a locais específicos dos antibióticos, desse modo reduzindo o espectro de atividade.²³ Os mesmos autores afirmam que o antagonismo é devido a um efeito sinérgico multialvo, pois os constituintes de um produto em associação podem afetar a atividade de um ou de outro interferindo com vários alvos.

O estudo demonstrou que os extratos hexânico e metanólico de *B. vulgaris* reduziram a CIM das bactérias de linhagem padrão e quando associados aos aminoglicosídeos houve potencialização da ação nas espécies bacterianas multirresistentes testadas exceto *Staphylococcus aureus* quando modulado com o antibiótico gentamicina.

Os extratos pesquisados possuem metabólitos secundários que tem uma diversidade de ações, destacando a ação antimicrobiana dos taninos e flavonóides já comprovada em estudos anteriores.

Os resultados obtidos nesta pesquisa são promissores, podendo assim auxiliar em futuros estudos sobre produtos naturais a fim de favorecer a viabilização ao combate à resistência microbiana. No entanto substâncias devem ser isoladas e testadas para possível melhor explicação dos efeitos sinérgicos e antagônico mostrados neste estudo.

REFERÊNCIAS

1. Calixto JB. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America a personal view. *J Ethnopharmacol.* 2005;100:131-4.
2. Ernst E. Prevalence of use of complementary/alternative medicine: a systematic review. *Bull World Health Organ.* 2000;78(2):252-7.
3. Souza AS, Avancini CAM, Wiest JM. Atividade antimicrobiana de *Tagetes minuta* L. – Compositae (Chinchilho) frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. São Paulo, Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 2000;37(6):429-33.
4. Hernandez NK, Vital HC, Sabaa Srur AUO. Irradiação de alimentos: vantagens e limitações. *Bol. SBCTA.* 2003;37(2):154-9.
5. Fonseca Z. *Beta vulgaris* subsp. *Orientalis* (roth) Aell; 2004.
6. Angélico EC. Avaliação das atividades antibacteriana e antioxidante de *Croton heliotropifolius* Kunze e *Croton blanchetianus* Baill. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em zootecnia da Universidade Federal de Campina Grande- UFCG. Patos- PB; 2011.
7. Matias FE. Avaliação da atividade bacteriana a aminoglicosídeos de extratos polares e apolares de *Croton campestris* A. (velame), (*Ocimum gartissimum* L. (alfavaca) e *Cordia verbanacea* DC (erva-baleeira). Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Bioprospecção molecular de produtos naturais e microbiologia. Universidade Regional do Cariri – URCA. Crato-CE; 2010.
8. Brito SA, Coutinho HDM, Barros ARC, Rodrigues FFG, Costa JGM. Prospecção fitoquímica e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do látex de *Colotropis provera* (asclepidaceae). *Cad Cult Ciênc.* 2010;2(2):31-3.
9. Brasileiro BG, Pizziolo VR, Raslan DS, Jamal CM, Silveira D. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.* 2006;42(2):195-202.
10. NCCLS – NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 5ª ed. Villanova, PA: NCCLS approved standard M7-A5. 2000;20(2):1-88.
11. Javadpour MM, Juban MM, Lo WC, Bishop SM, Alberty JB, Cowell SM, et al. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. *J. Med. Chem.* 1998;39(16):3107-13.
13. Matos FJA. Introdução a fitoquímica experimental. 2.ed. Fortaleza- CE. Editora: UFC; 1997.
14. Araújo JM. Química de Alimentos: Teoria e Prática. 4 ed, Viçosa: Editora UF; 2008. p. 477.
15. Filho DW, Silva EL, Boveris A. Flavonóides antioxidantes de plantas medicinais e alimentos: importância e perspectivas terapêuticas. In: Yunes RA, Calixto JB. Plantas Mediciniais: sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Agros; 2001. p. 317-34.

16. Simões CMO, Mentz LA, Schenkel EP, Irgang BE, Stehmann JR. Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul. 50 ed. Porto Alegre, RS: UFRGS; 1998.
17. Guimarães-beelen, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of Tomorrow. Mol. Aspects Med. 2006;27(1):91-3.
18. Coutinho HD, Costa JGM, Lima EO, Falcao-silva VS, Siqueira-junior JP. Potentiating effect of *Mentha arvensis* and chlorpromazine in the resistance to aminoglycosides of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. In vivo. 2009;23(2):287-9.
19. Coutinho HD, Costa JGM, Siqueira JR, Lima EO. In vitro screening by phototoxic properties of *Eugenia uniflora* L., *Momordica charantia* L., *Mentha arvensis* L. and *Turnera ulmifolia* L. Rev. Bras. Biociênc. 2010;8(3):299-301.
20. Matias EFF, Santos KKA, Almeida TS, Costa JGM, Coutinho HDM. Enhancement of Antibiotic Activity by *Cordia verbenacea* DC. Lat. Am. J. Pharm. 2010;29(6):1049-52.
21. Leandro LMG, Aquino PEAA, Macedo RO, Rodrigues FFG, Guedes TTAM. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória de extratos metanólico e hexânico da casca de *Sideroxylon obtusifolium*. Rev. e-Ciênc. 2013;1(1):1-10.
22. Tintino RS, Cunha BAF, Santos AKK, Guedes MMG, Souza SEC, Matias FFE, et al. Atividade moduladora de extratos etanólicos e hexânico de raiz de *Costus cf. arabicus* sobre drogas antimicrobianas. Rev. Bras. Biociênc. 2013;11(2):157162.
23. Coutinho HDM, Costa JG, Lima EO, Falcão-silva VS, Siqueira-júnior JP. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. Chemother, Genebra. 2008;54(4):328-30.
24. Wagner H, Ulrich-merzenich G. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. Phytomed, Londres. 2009;16(2-3):97-110.
25. Silveira CS, Pessanha CM, Lourenço MCS, Neves junior I, Menezes FS, Kaplan MAC, et al. Atividade antimicrobiana dos frutos de *Syagrus oleracea* e *Mauritia vinifera*. Braz. J Pharmacog. 2005;15(2):143-48.
26. Jana S, Deb JK. Molecular targets for design of novel inhibitors to circumvent aminoglycoside resistance. Curr Drug Targets. 2005;6(3):353-36.

Recibido: 25 de noviembre de 2014.

Aprobado: 20 de septiembre de 2015.

Saulo Relison Tintino. Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular.
Departamento de Química Biológica. Universidade Regional do Cariri (URCA). Av. Cel Antonio Luiz, 1161. CEP: 6 3000-000. Crato (CE), Brasil.
Correo electrónico: saulorelison@gmail.com