

ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE UMA CÁPSULA PRODUZIDA A PARTIR DA ASSOCIAÇÃO DOS EXTRATOS SECOS DO *Allium Sativum* (alho) *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e *Cinnamomum zeylanicum* (canela)

ELLEN T. M. S. LEÃO*, GERSON H. C. VIDAL², RISONILDO P. CORDEIRO³

Associação Caruaruense de Ensino de Ensino Superior e Técnico, Av. Portugal, 584, 55016-400, Bairro Universitário, Caruaru, PE, Brasil

RESUMO: A evolução no desenvolvimento de fármacos antimicrobianos trouxe, também, a crescente resistência bacteriana. Assim sendo, é crescente a busca por novos fármacos com potencial ação antimicrobiana. Por esse motivo, instigou-se o interesse pelo estudo de espécies condimentares com atividades farmacológicas já conhecidas, o alho, cravo-da-índia e a canela. O presente trabalho objetivou analisar o potencial antimicrobiano de uma cápsula produzida a partir da associação dos extratos secos do *Allium Sativum* (alho), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e *Cinnamomum zeylanicum* (canela). Sendo um estudo laboratorial experimental – observacional, através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), pela técnica de poços; avaliação do potencial antimicrobiano pela dissolução em placas - pour plate e avaliação da toxicidade com *Artemia salina*. O extrato seco obtido a partir do cravo-da-índia, e suas associações duplas com o alho e com a canela apresentaram halo de inibição frente todas as espécies bacterianas testadas, sendo elas: *Candida albicans*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* e *Escherichia coli*. Na determinação da toxicidade, a canela apresentou-se atóxico, o alho e o cravo apresentaram-se com baixa toxicidade, obtendo-se respectivamente os resultados de 1200,43402 µg/mL, 713,60132 µg/mL e 452,89739 µg/ mL, em concentrações de 50mg. Concluiu-se que o produto final obtido, sob condições associativas, apresenta uma potencial atividade antimicrobiana, tendo valores atóxicos para o uso. Sendo, desta feita, promissoras as atividades das cápsulas, necessitando a realização dos ensaios pré-clínicos.

Unitermos: *Allium Sativum*, *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum*, atividade antimicrobiana, plantas condimentares.

ABSTRACT: The evolution in the development of antimicrobial drugs has also brought the increase of bacterial resistance. Therefore, there is a growing search for new drugs with potential antimicrobial action. For that, reason was investigated to the interest in the study of spices species with pharmacological activities already known, garlic, indian clove and cinnamon. This study aimed to analyze the antimicrobial potential of a capsule produced from the association of dry extracts of *Allium Sativum* (garlic), *Syzygium aromaticum* (indian clove) and *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon). This is an experimental laboratory study - Observational by the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), wells technique; antimicrobial evaluation by the dissolution in boards; and evaluation of toxicity with *Artemia salina*. The dry extract obtained from the indian clove, and its dual combination with garlic and cinnamon showed inhibition halo in all tested bacterial species, which are: *Candida*

albicans, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* and *Escherichia coli*. In determining the toxicity, cinnamon was presented nontoxic, garlic and indian cloves was presented with low toxicity, obtaining respectively the results 1200,43402 µg/mL, 713,60132 µg/mL and 452,89739 µg/mL, at concentrations of 50mg. It was concluded that the final product obtained, under conditions associative, has a potential antimicrobial activity, and nontoxic values for consumption. The activities of the capsules were promising, requiring the realization of others essays, preclinical.

Key words: *Allium sativum*, *Syzygium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum*, antimicrobial activity, toxicity, spices plants.

*E-mail: ellenmsouzaleao@gmail.com, tel. + 55-87-99162-9589

INTRODUÇÃO

Diante da vasta biodiversidade brasileira, com um acervo amplo de plantas medicinais, que muito se sabe do seu potencial farmacológico, porém ainda de forma empírico/cultural, torna-se relevante o aprofundamento das propriedades preventivas, curativas e recuperativas, de caráter científico. Sabe-se que a maior parte dos produtos farmacêuticos foi desenvolvida a partir dos produtos naturais. Contudo, estima-se que das 300 mil espécies de plantas no mundo, apenas 15% delas tenham sido submetidas a algum estudo científico para avaliar suas potencialidades na preparação de novos produtos (Brandão, 2004).

A disseminação do uso de plantas medicinais para o desenvolvimento de novos fármacos, especialmente antimicrobianos, tem-se mostrado uma alternativa frente ao cenário atual, principalmente na atenção básica à saúde, de forma preventiva. Em 2009, o Ministério da Saúde (MS) divulgou uma lista contendo 71 plantas medicinais indicadas para serem utilizadas pelo Sistema Único de Saúde (SUS), a RENISUS: Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao SUS, constituída de espécies vegetais com potencial de avançar nas etapas da cadeia produtiva e de gerar produtos de interesse do Ministério da Saúde do Brasil, onde o *Allium sativum* faz parte desta. (Anvisa, 2006)

Popularmente o alho é utilizado como condimento alimentício e como recurso terapêutico. Poucas plantas são tão completas, têm tantas propriedades saudáveis e estão ao alcance de todos, como o alho (Crizel, 2009). É uma hortaliça pertencente à família *Liliacea*. O avanço da pesquisa científica nas últimas décadas permitiu compreender suas propriedades, entre as quais estão a de possuir atividade antimicrobiana (Giovanela, 2002)

e antioxidante (KHOSLA *et al.*, 2004). Outras ações farmacológicas estão sendo registradas em estudos com ratos (Mukherjee *et al.*, 2004) e humanos (Hodge *et al.*, 2002).

O extrato hidroalcoólico do alho apresentou uma ação fungicida em quatro testes com concentrações diferentes frente à *Candida albicans*. (Ota *et al.*, 2010). 24 µL do extrato puro, em concentração de 6%, inibiram o crescimento das bactérias *E. coli* e *S. aureus* (Silva *et al.*, 2012). Verificou-se que apenas o alho *in natura* e o extrato hidroalcoólico apresentaram atividade antibacteriana ante os três microrganismos testados. Portanto, as preparações usualmente utilizadas pela população no tratamento de infecções, cápsula de óleo de alho e extratos aquosos mostraram-se ineficazes para este fim, no presente estudo. (Santiago *et al.*, 2011)

O cravo-da-índia possui propriedades antibactericidas é também usado como anestésico e antisséptico para o alívio de dores de dente (Nascimento *et al.*, 2000). Além de seus efeitos nessas aplicações, os extratos de cravo-da-índia reduzem o número de *Escherichia coli* e outras bactérias durante a armazenagem de sucos, leites e chás (Mau *et al.*, 2001).

Extratos dessa espécie também apresentam atividades biológicas, relatando o alto potencial antimicrobiano e atividade bactericida frente a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, testados com o extrato de *S. aromaticum* (Nascimento *et al.*, 2007). Dietas a base de cravo-da-índia podem ter efeitos benéficos para o tratamento da diabete (Prasad *et al.*, 2005).

A canela (*Cinnamomum zeylanicum*) é uma das mais antigas especiarias conhecida, suas folhas e cascas são fortemente aromáticas, sendo também utilizada na culinária, como condimento, além de ser, popularmente utilizada como estimulante, tônica, carminativa e antiespasmódica (PIO CÔRREA, 1994; COSTA, 1975; ALMEIDA, 1993). Alguns trabalhos realizados sobre o óleo de *C. zeylanicum* indicaram uma grande diversidade da composição química, com relato de pelo menos quatro quimiotipos: eugenol (E)-cinamaldeído; benzoato de metila, linalol e cânfora (Senanayake, 1998). Outros estudos com os óleos essenciais do gengibre, capim-citronela e a canela, o óleo essencial de canela foi o mais efetivo na inibição do crescimento bacteriano, devendo-se a maior concentração de aldeído cinâmico em elevada concentração (77,72%), quando comparada com as outras plantas estudadas (Andrade *et al.*, 2010).

Diante dos estudos já descritos sobre, alho, cravo-da-índia e canela, torna-se relevante a produção de uma cápsula a base da associação do extrato das três plantas, com propriedades terapêuticas, objetivando analisar seu potencial antimicrobiano.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

Foram utilizados *Allium Sativum* (bulbos), *Syzygium aromaticum* (sementes) e *Cinnamomum zeylanicum* (casca), todo material foi obtido em fornecedor idôneo.

Preparação do Extrato Bruto Seco

Para a obtenção do extrato bruto seco de *Allium Sativum* (alho), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e *Cinnamomum zeylanicum* (canela) foram utilizadas às partes com atividade de interesse. O procedimento foi realizado a partir da trituração das partes utilizadas e imersão em solução extrativa, o material vegetal foi mantido imerso na solução por 5 dias, depois filtrada a vácuo e concentrada em evaporação rotativa.

Avaliação da Atividade Tóxica

A atividade tóxica dos extratos foi avaliada através do teste de letalidade frente *Artemia salina* Leach, de acordo com o método proposto por Meyer et al. (1982). Após a eclosão larvas de *A. salina* foram separadas em 7 grupos com 10 a 13 larvas. O primeiro grupo recebeu a solução controle contendo tensoativo Tween e água salina. Os 6 grupos seguintes receberam diferentes concentrações (1000µg/ mL, 750 µg/ mL, 500 µg/ mL, 250 µg/ mL, 100 µg/ mL e 50 µg/ mL) dos extratos secos obtidos a partir do alho, cravo e canela, feitas a partir de 50 mg de cada substância vegetal onde adicionou-se 1mL de Tween e 5 mL de água salina, os testes foram realizados em triplicata. Estes grupos foram colocados por um período de 24 horas sobre iluminação artificial. Após este período, foi contabilizado o número de larvas vivas e mortas.

Avaliação da Atividade Antimicrobiana

A avaliação da ação antimicrobiana foi realizada in vitro sendo utilizadas como indicadoras cinco cepas de microrganismos sendo quatro cepas de bactérias e uma de levedura cultivadas por 24 horas a 37 °C em meio de cultura Ágar Müller Hinton e Ágar *Sabouraud*, respectivamente. As cepas de bactérias utilizadas foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 3613, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella* e a levedura: *Candida albicans*

ATCC 76615. A ação antimicrobiana frente aos microrganismos foi determinada por dois métodos sendo eles: Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), Método de Dissolução em Placa (Pour-Plate).

A determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI), da Concentração Mínima Bactericida (CBM), e do Potencial Antibiótico do Extrato Bruto Seco, foi realizada por disco-difusão segundo United States Pharmacopeial (USP, 2008). Preparou-se inóculos das respectivas bactérias supracitadas em solução salina de soro fisiológico, para controlar a concentração bacteriana foi utilizada a escala 0,5 de Marc-Farland. Em cada placa semeada foram confeccionados cinco poços de 6 mm de diâmetro, para a inserção de 50µL de extrato bruto alcoólico em diferentes concentrações, partindo de solução de 100% inicialmente preparada a partir de 0,5g de cada extrato e diluído em 5mL de soro fisiológico, seguido pelas diluições de 50%, 25%, 12,5% e 6,25 % dos extratos brutos secos de cada planta. Após essa etapa, as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, para posterior mensuração dos halos em milímetros (mm).

Para a avaliação do potencial antimicrobiano utilizando-se o método de dissolução em placas, para a preparação do inóculo foram selecionadas 2 a 3 colônias de cada bactéria ativada em Ágar Muller-Hinton, e transferidas para tubos de ensaio contendo 2 mL de solução salina 0,86%, estéril e homogeneizadas por 15 segundos. Utilizou-se a escala McFarland como padrão de turbidez para certificação do inóculo. Dissolveu-se 1g do produto final, sendo este a associação dos extratos brutos secos, adicionado do excipiente amido, em 5 mL de soro para obter-se a chamada solução mãe; e para o padrão branco, utilizou-se 1g de amido e 5 mL de soro. Distribuiu-se em 5 tubos, sendo 1 mL em cada tudo da solução mãe e outros 5 tubos, cada um com 1 mL do branco. Em cada tudo inoculou-se 10 µL, obtendo-se concentração de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL de cada bactéria; homogeneizou-se e aguardou-se sob repouso por 5 min. Distribuiu-se em placas os inóculos com solução mãe e também o padrão branco, sendo suspenso nos respectivos meios de crescimento adequados, sendo o Ágar Muller-Hinton para as bactérias e o Sabouraud para o fungo em análise.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No bioensaio de toxicidade, após 24 horas de exposição da *Artemia salina* Leach, observou-se que houve baixo número de óbitos em todas as concentrações testadas da amostra de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) mostrou-se atóxico nas concentrações e

condições testadas,, apresentando valores da CL50 na faixa de 1200,43402 $\mu\text{g}/\text{m}$, enquanto que o *Allium sativum* L (alho) e *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) apresentaram-se com baixa toxicidade, obtendo-se valores da CL50 na faixa de 713,60132 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 452,89739 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectivamente, visto que só são consideradas com baixa toxicidade substâncias que tenham $\text{TAS} > 1000 \mu\text{g}/\text{mL}$ ($1 \mu\text{g}/\text{mL} = 1 \text{ppm}$).

Gráfico 1. Determinação da Toxicidade segundo a metodologia de Mayer para a Canela

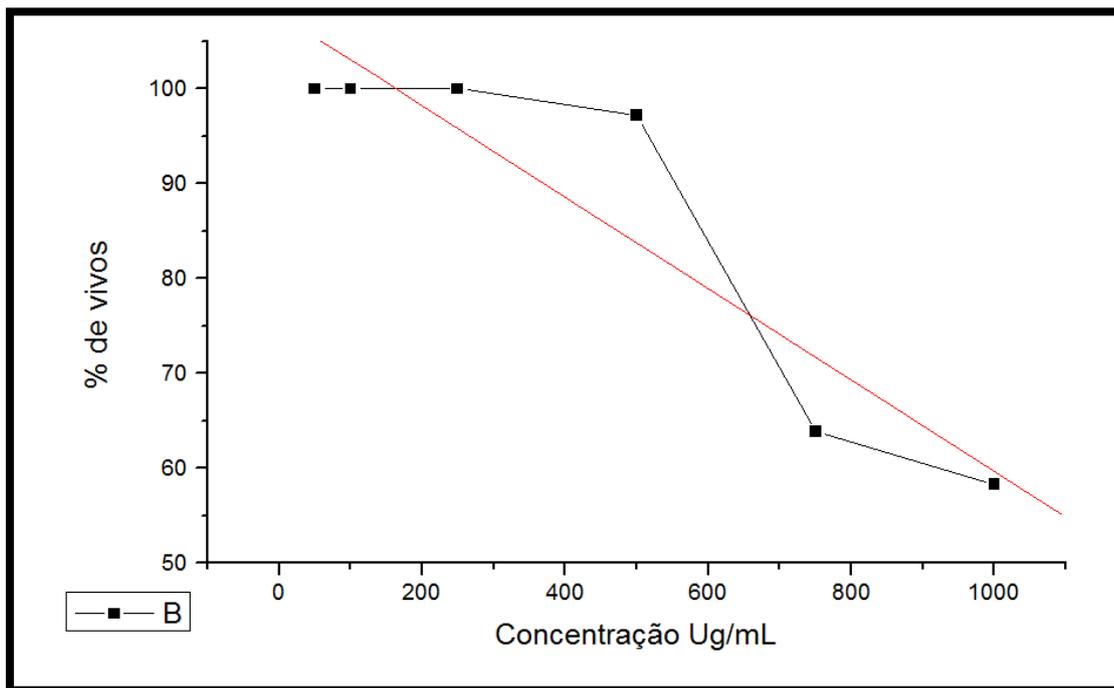


Gráfico 2. Determinação da Toxicidade segundo a metodologia de Mayer para o Alho

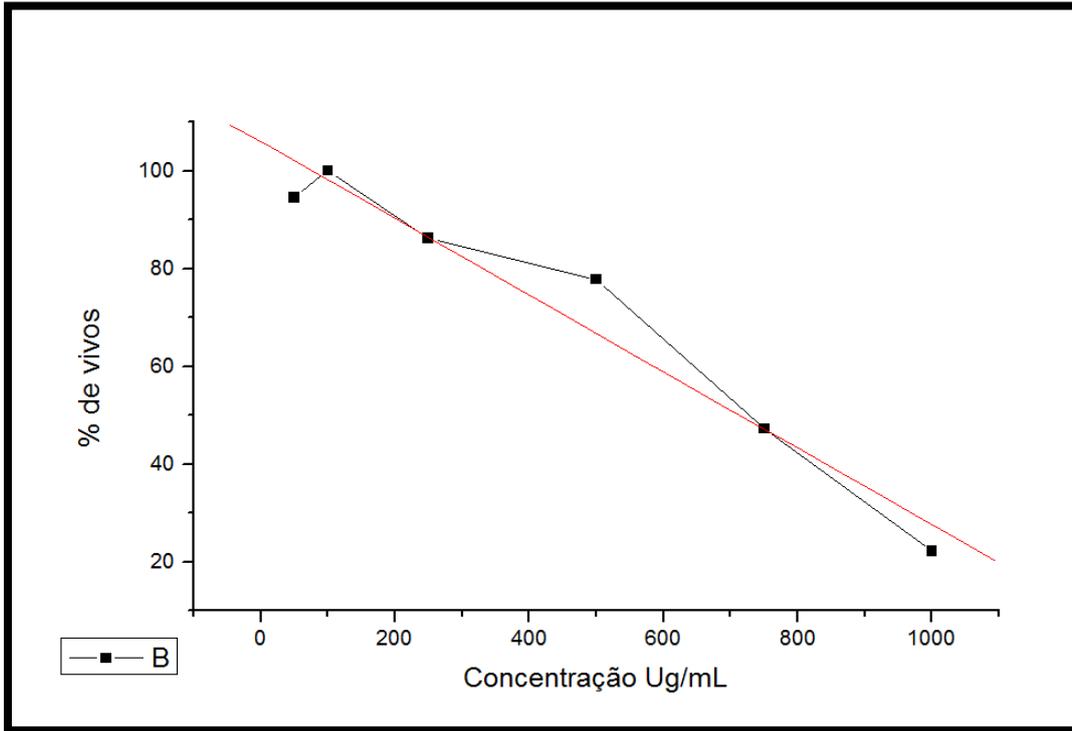
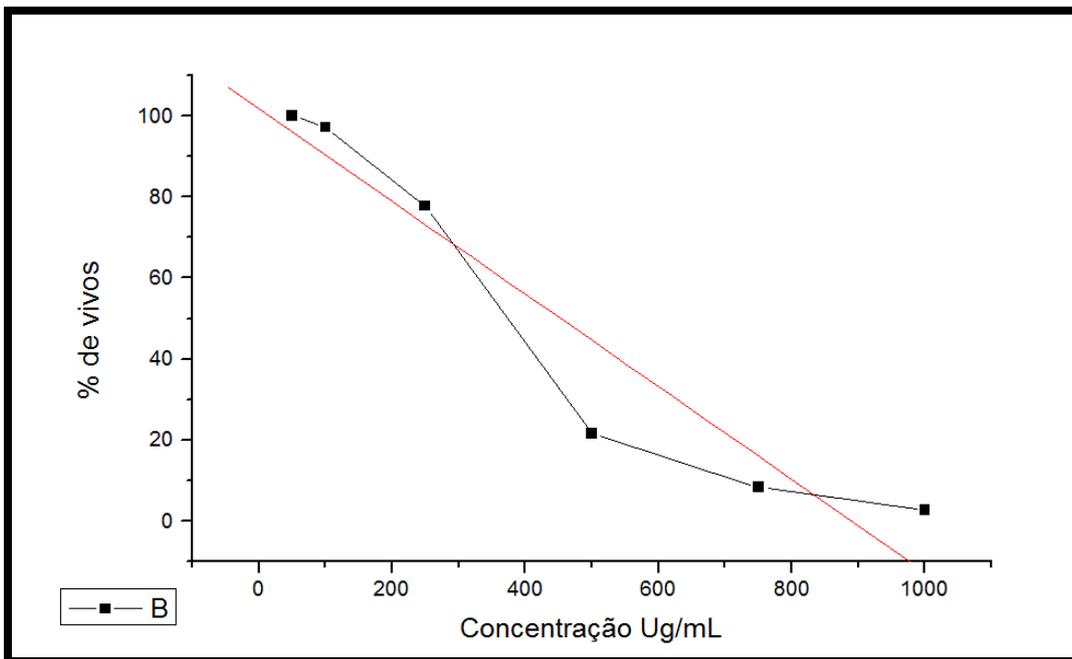


Gráfico 3. Determinação da Toxicidade segundo a metodologia de Mayer para o Cravo-da-índia



Considerando os resultados obtidos nos ensaios toxicológicos satisfatórios, seguiu-se com a realização dos testes microbiológicos. O extrato do *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), apresentou uma boa atividade antimicrobiana, bem como sua associação com o

Allium Sativum (alho) e a *Cinnamomum zeylanicu* (canela), apresentando halos de Concentração Mínima Inibitória (CMI) e de Concentração Mínima Bactericida (CBM) de 30mm, 25mm e 22mm, respectivamente, para o fungo *Candida* ATCC 76615; de 15mm, 11mm para *Salmonella* ATCC 14028, não havendo inibição na associação de cravo e canela frente essa espécie; de 16mm, 13mm e 14mm para *Staphylococcus aureus* ATCC 3613; 18mm, 14mm e 14mm para *Klebsiella* ATCC 13883 e 18mm, 13mm e 16mm para *Escherichia coli* ATCC 25922 entretanto não apresentou halos de inibição nas concentrações e condições testadas para a associação alho e canela frente as espécies testadas.

Tabela1. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) para Cravo

CMI	100%	50%	25%	12,5%
<i>Candida</i>	30mm	16mm	8mm	
<i>Salmonella</i>	15mm	13mm	8mm	
<i>S. aureus</i>	16mm	14mm	9mm	
<i>Klebsiella</i>	18mm	14mm	11mm	10mm
<i>E.coli</i>	18mm	15mm	12mm	

Testes realizados com óleo essencial de *S. aromaticum* mostraram atividade inibitória frente aos fungos *Candida* e *Aspergillus* (Pinto et al, 2009) e frente as bactérias *Vibrio* spp. *Edwardsiella* ssp. *Aeromonas* spp., *Escherichia coli*, e *Pseudomonas* ssp. (Lee et al, 2009). Dessa forma, o extrato seco obtido neste ensaio, apresentou atividade antimicrobiana satisfatória frente as espécies testadas.

Tabela2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) para associação Cravo e Alho

CMI	100%	50%	25%	12,5%
<i>Candida</i>	25mm	21mm	18mm	
<i>Salmonella</i>	11mm			
<i>S. aureus</i>	13mm	12mm	8mm	
<i>Klebsiella</i>	14mm	14mm		
<i>E.coli</i>	13mm	13mm	9mm	

Verificou-se que há uma provável eficiência na inibição da cepa bacteriana de *Bacillus thuringiensis* pelo extrato aquoso do alho, demonstrada pelo aumento do tamanho do halo em proporção ao aumento das concentrações, considerando-se que a concentração 40% apresentou um menor valor que a de 30%. (Silva et al., 2012). Os testes realizados, afirmam que o extrato de *Allium sativum* apresentou maior abrangência na atividade inibitória (100%) e bactericida (78,57%), demonstrando atividade bactericida para *S. para* os sorovares *S. Heidelberg*, *S. Cubana*, *S. Orion*, *S. Enteritidis*, *S. Enterica*, *S. Lexington*, *S. Give*, *S. Newport*, *S. Montevedeo* e *S. Kentucky* (Bona et. al., 2012)

Tabela3. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) para associação Cravo e Canela

CMI	100%	50%	25%	12,5%
<i>Candida</i>	22mm	15mm	10mm	
<i>S. aureus</i>	13mm	12mm	8mm	
<i>Klebsiella</i>	14mm			
<i>E.coli</i>	16mm	10mm		

O óleo essencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) é utilizado como flavorizante, aromatizante e conservante natural de alimentos e estudos mostraram sua alta capacidade de inibir fungos (Lima et al., 2006) e bactérias (Matan et al., 2006).

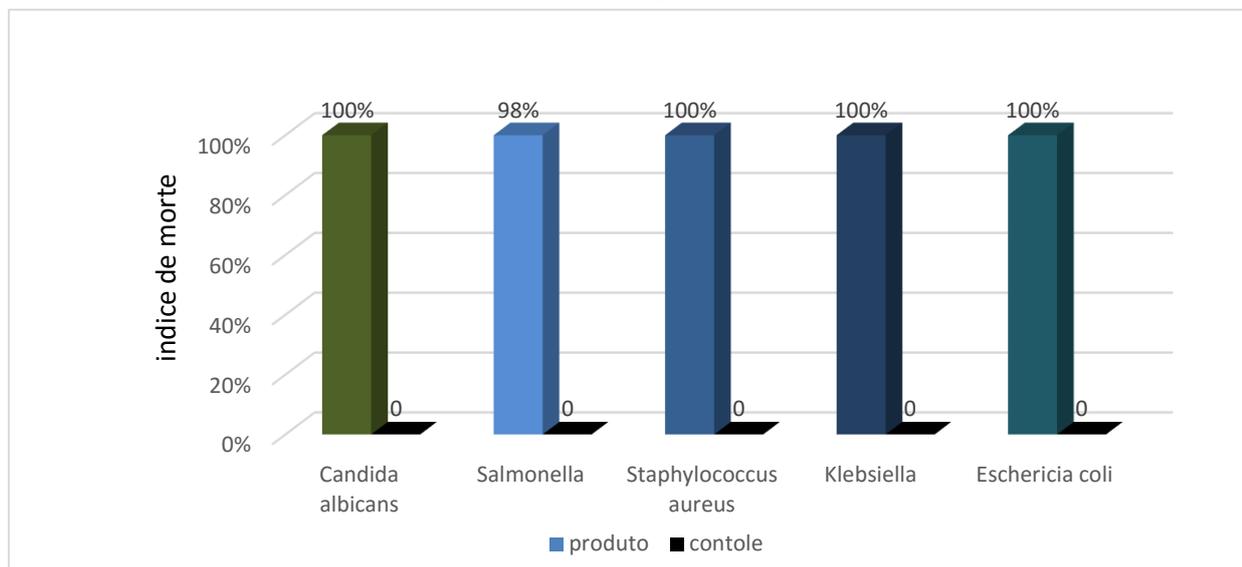
A presente associação mostrou-se capaz de inibir a atividade do fungo *Candida*, bem como bactérias de interesse clínico e farmacológico, sendo ela *S. aureus*, *Klebsiella* e *E.coli*, o que corrobora seu potencial antimicrobiano.

Mediante os halos de inibição apresentados, a partir das concentrações testadas, deu-se a produção da cápsula, utilizando-se o amido como excipiente. Pesou-se as seguintes quantidades dos extratos secos obtidos previamente 0,4g do cravo, 0,3g do alho e 0,3g da canela, que foi diluído em 3mL de água destilada e acrescido de 5g de amido, onde passou-se pelo processo de trituração em grau e pistilo. Seguiu-se para estufa a 40°C pelo tempo necessário para a secagem. Posteriormente o material foi tamisado e homogeneizado, sendo encapsulado em cápsulas da cor verde, tamanho 0, comportando em média 500 mg do produto final, onde obteve-se o total de 15 cápsulas.

Realizou-se a determinação do peso médio das cápsulas, que apresentou o valor de 0,534g sendo, do cravo 0,026g (26mg), da canela 0,020g (20mg) e do alho 0,020g(20mg), por cápsula.

No ensaio por Método de Dissolução em Placas utilizou-se o produto final obtido a partir dos extratos das espécies *Syzygium aromaticum*, *Allium Sativium* e *Cinnamomum zeylanicu* adicionado do excipiente amido, tendo sido encapsulado posteriormente; Obteve-se um elevado índice de inibição do crescimento microbiano para todas as espécies bacterianas e fúngicas testadas, sendo elas *Candida albicans*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Klebisiella* e *Eschericia coli*.

Gráfico 4. Inibição do crescimento microbiológico da associação dos estratos



Diante dos resultados obtidos, conclui-se que a produção da cápsula reflete na capacidade de se obter diferentes novos fármacos de potenciais antimicrobianos relevantes a partir de extratos vegetais, já que se obteve uma boa atividade frente as bactérias testadas, bem como sob o fungo em estudo. Sendo as concentrações utilizadas no produto final, dentro de valores próximos da toxicidade, expressando seu potencial como produto terapêutico, fazendo-se necessário a continuidade dos estudos, com novos ensaios pré-clínicos e clínicos para obtenção de um produto final.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela permissão e providência na conclusão deste trabalho. A minha mãe e demais familiares pelo apoio incondicional. Ao meu colega Gerson Henrique pela determinação e comprometimento no desenvolvimento de todas as etapas dos estudos propostos, ao Prof. Risonildo Pereira Cordeiro pelo auxílio científico e também a Faculdade ASCES pela disponibilização de sua estrutura física para a realização dos experimentos.

REFERÊNCIAS

BARA, Maria Teresa Freitas and VANETTI, Maria Cristina Dantas. Estudo da atividade antibacteriana de plantas medicinais, aromáticas e corantes naturais. Rev. bras. farmacogn. [Online]. 1998, vol.7-8, n.1, pp. 22-34. ISSN 0102-695X.

BRANDÃO MGL, DINIZ B G, MONTE-MOR RLM. Plantas medicinais: um saber ameaçado. Ciência Hoje, 35, 64–66, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos. Brasília: Ministério da Saúde, 148p, 2006a.

BRASIL. Portaria nº971 de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no SUS. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2006b.

CAÑIGUERAL S, Dellacassa E, Bandoni AL 2003. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿indicadores de dependencia o factores de desarrollo? Acta Farm Bonaerense 22: 265-278.

CRIZEL, M.M. Alho: características, processamento e benefícios à saúde. Pelotas, 2009.

DAL POZZO, M et al. Activity of essential oils from spices against Staphylococcus spp. isolated from bovine mastitis. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.

DE BONA, E.A.M. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente a sorovares de salmonella spp. de origem avícola. UNOPAR Cient. Ciênc. biol. saúde;15(1), jan. 13. tab.

FONSECA, G.M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana do alho (*Allium sativum* Liliaceae) e de seu extrato aquoso. Rev. bras. plantas med., Botucatu, v. 16, n. 3, supl. 1, p. 679-684, 2014.

FURLAN, M.R. Dossiê técnico cultivo de plantas condimentares herbáceas. Belo Horizonte: Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais/CETEC, 2007. 29p.

GIOVANELA L E M (2002). Efeito da degradação de extratos de *Allium sativum* L. (Liliiflorae – Liliaceae) no crescimento de microrganismos patogênicos. Caderno de Iniciação à Pesquisa, 4: 25-31.

HODGE G, Hodge S, Han P (2002). *Allium sativum*(garlic) suppresses leukocyte inflammatory cytokine production in vitro: Potential therapeutic use in the treatment of inflammatory bowel disease. *Cytometry* 48(4): 209-215. Houghton P J, Raman A (1998). Laboratory handbook for the fractionation of natural extracts. Chapman & May, London, 199 p.

KHOSLA P, Karan R S, Bhargava V K (2004). Effect of garlic oil on ethanol induced gastric ulcers in rats. *Phytotherapy Research* 18(1): 87-91.

LIMA, M.P. et al. Constituintes voláteis das folhas e dos galhos de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae). **Acta Amazônica**, v.35, n.3, p.363-6, 2005.

MARCHIORI, V.F. PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO ALHO (*Allium sativum* L.).2005 Disponível em: http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/alho_revisado.pdf. Acessado as 19:23 do dia 13/08/2015.

MATAN, N. et al. Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v.107, n.2, p.180-5, 2006. MAU, J.L., et al. (2001) Antimicrobial effects of extracts from Chinese chive, cinnamon and corn fructus. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49:183-188.

MEYER, B.N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plants constituents. *Planta Medica*, v.45, p.31-4, 1982.

MUKHERJEE M, Das A S, Mitra S, Mitra C (2004). Prevention of bone loss by oil extract of garlic (*Allium sativum* Linn.) in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *Phytotherapy Research* 18(5): 389-394.

NASCIMENTO, G.G.F., Locatelli J & Freitas PC (2000) Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic – resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31:247-256.

NASCIMENTO, P.F.C., Nascimento AC, Rodrigues CS, Antonioli AR, Santos PO, Júnior BMA & Trindade RC (2007) Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17:108-113.

PRASAD, R.C., Herzog B, Boone B, Sims L, Waltner-Law M (2005). An extract of *Syzygium aromaticum* represses genes encoding hepatic gluconeogenic enzymes. *J Ethnopharmacol* 96: 295-301

PINTO E, Vale-Silva L, Cavaleiro C, Salgueiro L 2009. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* (*Eugenia caryophyllus*) on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *J Med Microbiol* 58: 1454-1462.

RODRIGUES, F.; CARVALHO, H.H.C. and WIEST, J.M..Diferentes condimentos vegetais: avaliação sensorial e de atividade antibacteriana em preparação alimentar com frango cozido. *Rev. bras. plantas med.* [online]. 2011, vol.13, n.3, pp. 342-348. ISSN 1516-0572. .

ROSSI, F.; ANDREAZZI, D. B. Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma. São Paulo: Atheneu, 2005. 118 p.

SILVA, A.P. da et al. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ALHO (ALLIUM SATIVUM LINEU) NA FORMA DE EXTRATO AQUOSO E IN NATURA SOBRE A CEPA BACILLUS THURINGIENSIS BERLINER. *Rev UNIARA*, v.15, n.2, dezembro 2012

SILVA, D. A. K.; CHAVES, C.; GERN, M. I. Estudo da atividade antibacteriana de duas soluções extrativas de *Allium sativum* L., uma obtida por método popular e outra na forma de suco manipuladas em gel. Joinville – SC 2005

SOUZA, C.M.P et al. Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do serviço público de saúde em Campina Grande - Paraíba. *Rev. bras. plantas med.* [online]. 2013, vol.15, n.2, pp. 188-193. ISSN 1516-0572.

U.S. Pharmacopoeia. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, USP 31/ THE NATIONAL FORMULARY, NF 26 ed. Rockville: The United Pharmacopoeial Convention, 2008.

VEIGA JUNIOR, Valdir F.; PINTO, Angelo C. and MACIEL, Maria Aparecida M.. Plantas medicinais: cura segura? *Quím. Nova*[online]. 2005, vol.28, n.3, pp. 519-528. ISSN 0100-4042.

