

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais

Graduação em Biotecnologia

KATHLEEN ADRIELE RODRIGUES DA CUNHA CONSTANTE

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL E
EXTRATOS DE AROEIRA VERMELHA (*Schinus molle*)**

Dourados - MS
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

C758d Constante, Kathleen Adrielle Rodrigues Da Cunha
DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO
ESSENCIAL E EXTRATOS DE AROEIRA VERMELHA (*Schinus molle*) /
Kathleen Adrielle Rodrigues Da Cunha Constante -- Dourados: UFGD, 2018.
42f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Simone Simionatto

Co-orientador: Gleyce Hellen de Almeida de Souza

TCC (Graduação em Biotecnologia) - Faculdade de Ciências Biológicas e
Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. Óleos essenciais. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Curva de sobrevivência..
4. *Shinus molle*. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais

Graduação em Biotecnologia

KATHLEEN ADRIELE RODRIGUES DA CUNHA CONSTANTE

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL E
EXTRATOS DE AROEIRA VERMELHA (*Schinus molle*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal da Grande Dourados para
obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Simone Simionatto.

Co-orientadora: Msc. Gleyce Hellen de Almeida de Souza.

Dourados - MS
2018

Kathleen Adriele Rodrigues da Cunha Constante

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL E
EXTRATOS DE AROEIRA VERMELHA (*Schinus molle*)**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em biotecnologia pela Universidade Federal da Grande Dourados, com a comissão formada por:

Prof.^a Dr.^a Simone Simionatto
Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais

Prof.^a Dr.^a Danielle Marques Vilela
Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais

Msc. Nathalie Gaebler Vasconcelos
Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências da Saúde

Msc. Márcia Soares Mattos Vaz (Suplente)
Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências da Saúde

Dourados, Março de 2018

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais, Ivete e Wellington (em memória), aos meus irmãos e toda minha família pelo apoio, amor e amparo dado em todos os momentos desta jornada!

AGRADECIMENTOS

Gratidão!

Agradeço primeiramente a Deus por tudo que me possibilitou viver esse sonho mediante à distância de casa, dificuldades enfrentadas, saudade da família e a todas as coisas que tem me concedido.

Aos meus pais, Ivete e Wellington, por sempre estarem ao meu lado, me encorajando, me dando força sempre nos meus estudos acima de tudo e torcendo por mim, embora meu pai esteja em memória. Suas histórias de vida me motivam cada dia mais para que eu construa minha carreira e minha vida, sem esquecer de toda dificuldade que já passaram e as batalhas que conquistaram. Obrigada pela educação que me passaram, exemplos de honestidade, amor, caráter e integridade. Vocês são meus modelos de vida, motivação e orgulho.

Aos meus irmãos e minha madrasta que na ausência do meu pai, fizeram-se presente dando apoio emocional, incentivo e contribuições financeiras para que eu continuasse minha jornada e não desistisse do meu sonho. Saibam que todos são meus espelhos e inspirações de que nenhum sonho é fácil, mas com vontade e respeito, podemos conquistar o mundo.

A minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Simone Simionatto, pelo incentivo, “puxões de orelha” merecidos por acreditar na minha capacidade, pela paciência e dedicação constante, principalmente nos momentos difíceis e por todo o conhecimento transmitido, pois contribuiu de forma substancial para o meu crescimento científico.

A Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul pelo fornecimento dos produtos vegetais utilizados neste estudo e a todos os professores que ministraram aula durante a graduação, que conseguiram me passar a compreensão e atuação da biotecnologia em diversas áreas do conhecimento, participando da minha formação.

A professora e diretora da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) Gisele Jane de Jesus, a qual participei durante dois anos, como monitora da disciplina de Microbiologia Geral para os cursos de Biologia e Gestão Ambiental. Agradeço por me conceder a experiência de trabalhar em equipe, vivenciar a dinâmica de aulas práticas, aprofundar o conhecimento dentro no universo da microbiologia e se apaixonar por ele. Todo esse auxílio como monitoria e conhecimento

transmitido, me inspirou e contribuiu para minha formação e escolhas em áreas de atuação e mercado de trabalho.

Aos meus companheiros e membros do Laboratório de Pesquisa Ciência e Saúde (LPCS) Gleyce, Laís, Júlio, Thiago, Romário, Marcelo, José Lourenço, Nathalie, Nani, Anny, Flora, Marianna, Carol, Letícia, Elaine, Amanda, Ronaldo, agradeço pela amizade, companheirismo e pela ajuda de todos vocês tanto nas práticas laboratoriais como na execução da meu trabalho de conclusão de curso.

Aos meus amigos que conheci ao longo da minha caminhada, Pedro, Fernanda, Thalles, Ramir, Rafael, Milton, Mikael, Kamilla, Maria Luiza, agradeço pelos momentos divertidos que passamos juntos sejam eles em disciplinas, congressos, laboratórios ou mesmo em festas. Agradeço pelo apoio que tivemos uns aos outros nos dias de dificuldades, medo e depressão. Vocês foram minha segunda família e sei que tudo posso contar.

Em especial a minha colega de laboratório Gleyce Hellen, agradeço por toda contribuição, paciência, tempo, dedicação, auxílio e dicas valiosas durante a construção da graduação e conclusão do meu trabalho.

A minha amiga Maria Luiza, que conheci como vizinha e manicure, agradeço enormemente todo amor e cuidado que teve comigo, pois de conhecida e cliente fiel, ela me adotou como filha e me amparou em inúmeros momentos. Considerando-me parte de sua família e participando de diversos momentos de comemorações particulares. Dessa forma pude me confortar da saudade de casa, com todo cuidado, proteção e afeto que recebi dela e toda sua família, meu imenso obrigado.

A todos que contribuíram de alguma forma e não foram citados, saibam que sempre estarão em minha memória, mas um imenso obrigado por todos que passaram durante essa caminhada, pois vocês não só colaboraram em uma construção pessoal como também participaram na minha formação.

Por fim ao meu namorado Guilherme Henrique que transformou meus semestres e meses mais difíceis em uma caminhada mais leve e com todo apoio e amor, tirou sorrisos de mim quando me sentia desmotivada, solitária e insegura. Saiba que sua presença e força faz toda diferença nas colaborações que eu preciso. Obrigada pela sua existência e ser quem você é.

Meus mais sinceros agradecimentos...

“Mesmo quando tudo parece desabar, cabe a mim decidir entre rir ou chorar, ir ou ficar, desistir ou lutar; porque descobri, no caminho incerto da vida, que o mais importante é o decidir.”

Cora Coralina

RESUMO

Schinus molle é uma espécie nativa da América do Sul, pertencente à família Anacardiaceae e conhecida popularmente como aroeira vermelha, sendo que é relatada como tendo propriedades antiespasmódica, anti-inflamatória, cicatrizante e antimicrobiana. Considerando o crescente número de infecções provocadas por bactérias e a busca na área vegetal de novos princípios ativos para produção de fármacos fitoterápicos, foi realizado este estudo com objetivo de avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial, extratos da folha e do fruto de *S. molle* frente às cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC e *Bacillus cereus* ATCC. Para isso foi realizada a avaliação de sobrevivência dos micro-organismos quando expostos ao óleo essencial, extratos da folha e do fruto de *S. molle*, através da concentração inibitória mínima e do ensaio de Time-Kill. No entanto, os compostos não apresentaram atividade antimicrobiana contra as bactérias avaliadas neste estudo. Desse modo, são necessários novos testes a fim de avaliar o potencial do efeito sinérgico destes compostos em associação com antimicrobianos, bem como avaliar estes compostos contra outras bactérias, como as bactérias Gram-negativas.

Palavras-chave: Óleo essencial, *S. molle*, atividade antimicrobiana e curva de sobrevivência.

ABSTRACT

Schinus molle is a specie native from South America, belonging to the family Anacardiaceae and popularly known as aroeira, and is reported to have antispasmodic, anti-inflammatory, healing and antimicrobial properties. Considering the increasing number of infections caused by bacteria and the search in the vegetal area of new active principles for the production of phytotherapeutic drugs, this study was carried out to evaluate the antimicrobial potential of essential oil, leaf extracts and *S. molle* against strains of *Staphylococcus aureus* ATCC and *Bacillus cereus* ATCC. For this purpose, the survival of the microorganisms when exposed to the essential oil, leaf and fruit extracts of *S. molle* were evaluated by means of the minimum inhibitory concentration and Time-Kill assay. However, the compounds did not present antimicrobial activity against the bacteria evaluated in this study. Thus, further testing is required to assess the potential synergistic effect of these compounds in combination with antimicrobials, as well as to evaluate these compounds against other bacteria, such as Gram-negative bacteria.

Keywords: Essential oil, *S. molle*, antimicrobial activity and survival curve.

LISTA DE ABREVIATURAS

AMH – Ágar Müeller-Hinton

AS – Ágar sangue

ATCC – American Type Culture Colection

CIM – Concentração inibitória mínima

CMH – Caldo Müeller-Hinton

OE - Óleo essencial

UFC – Unidade formadora de colônia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Coloração de <i>S. aureus</i> pelo método de Gram.	20
Figura 2 - Coloração de <i>B. cereus</i> pelo método de Gram.	20
Figura 3 - <i>S. molle</i>	22
Figura 4 - Folha do <i>S. molle</i>	22
Figura 5 - Frutos do <i>S. molle</i>	23
Figura 6 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de <i>S. molle</i> frente <i>S. aureus</i> e <i>B. cereus</i> pelo ensaio Time-Kill.....	30
Figura 7 - Atividade antimicrobiana do extrato bruto da folha de <i>S. molle</i> frente <i>S. aureus</i> e <i>B. cereus</i> pelo ensaio Time-Kill.	31
Figura 8 - Atividade antimicrobiana do extrato bruto do fruto de <i>S. molle</i> frente <i>S. aureus</i> e <i>B. cereus</i> pelo ensaio Time-Kill.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Concentração inibitória mínima (CIM) do óleo e dos extratos (folha e fruto) de <i>S. molle</i>	29
---	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Fitoterapia	17
2.2 Atividade antimicrobiana	18
2.3 <i>S. aureus</i> e <i>B. cereus</i>	19
2.4 <i>Schinus molle</i>	21
2.5 Família Anacardiaceae	21
2.6 Propriedades farmacológicas do óleo essencial de <i>S. molle</i>	24
3. OBJETIVOS	26
3.1 Objetivo geral	26
3.2 Objetivos específicos	26
4. MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1. Produtos Vegetais	27
4.2. Micro-organismos	27
4.3. Meios de cultura	27
4.4. Preparação dos inóculos	27
4.5. Determinação da atividade antimicrobiana	28
4.5.1. Concentração inibitória mínima (CIM)	28
4.5.2. Ensaios de Time-Kill	28
5. RESULTADOS	29
5.1 Método de microdiluição	29
5.2. Ensaios de Time-Kill	29
6. DISCUSSÃO	32
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
8. REFERÊNCIAS	36

1. INTRODUÇÃO

As plantas são utilizadas como recursos de sobrevivência ao alcance do ser humano e por isso possuem um papel de extrema importância em nossas vidas, uma vez que são utilizadas para compor a alimentação e como forma de alívio em enfermidades (LOPES, 2010). O uso de plantas medicinais é baseado no conhecimento popular, sendo, muitas vezes transmitidos conhecimentos ancestrais sobre o uso e eficiências das plantas de geração em geração, como parte de sua cultura (FERNANDES, 2014). As plantas significam um marco histórico na evolução de muitas nações, onde melhoraram as condições alimentícias e são, até os dias atuais, o princípio ativo de fármacos fitoterápicos e/ou a cura para muitas patologias (REZENDE *et al.*, 2002).

Dessa forma a utilização de vegetais *in natura* pelas populações vem se intensificando e ganhando espaço para muitas pesquisas (ROZATTO, 2012). Embora o Brasil tenha tamanha extensão, abundância, vegetações de diferentes características (GUERRA *et al.*, 1998), muitos princípios ativos permanecem desconhecidos, sendo necessários mais estudos com produtos de origem vegetal objetivando estudar o potencial farmacológico destas plantas (CALIXTO, 2003; NAPOLITANO *et al.*, 2005).

Dentre as várias abordagens propostas, os óleos essenciais ou extratos brutos, são os responsáveis pelas propriedades biológicas e antimicrobianas das plantas medicinais (LEAL, 2013). Os óleos essenciais (OE) são definidos como produtos naturais voláteis complexos, normalmente caracterizados por apresentarem odor forte e produzidos durante o metabolismo secundários de plantas aromáticas (MACHADO & JUNIOR, 2011). Mais de 1700 compostos voláteis já foram isolados de aproximadamente 90 famílias de plantas (DUDAREVA *et al.*, 2006). Além das drogas sintéticas, vários extratos brutos obtidos de plantas já demonstraram ação anticancerígena, antifúngica, antibacteriana e anti-inflamatória em modelos experimentais (OLIVEIRA, 2006), sendo esta atividade maior ou menor em função da composição de cada extrato e bactéria testada (LEAL, 2013).

Schinus molle é uma espécie nativa da América do Sul, pertencente à família Anacardiaceae e conhecida popularmente como aroeira. No Brasil, ocorre principalmente de Pernambuco ao Rio Grande do Sul em diversos tipos de formações vegetais (CARVALHO *et al.*, 1994). Devido à grande dispersão da espécie, apresenta diversas aplicações, principalmente pela madeira, na extração de taninos, em paisagismo (SANTOS *et al.*, 2010). As folhas contém óleos essenciais com riqueza em mono e sesquiterpenos, em teor de 1%

para folhas e 5%, os quais são mais utilizados na medicina popular. Sabe-se que este óleo possui propriedades antimicrobianas, antifúngicas, anti-inflamatórias, cicatrizantes e antiespasmódicas (FERNANDES, 2014).

O *S. aureus* trata-se de um micro-organismo responsável por infecções hospitalares e disseminação de doenças na comunidade, que pode se manifestar desde processos infecciosos leves até infecções graves que causam risco de morte (MANAPPALLIL, 2017). Outra bactéria de grande importância etiológica é o *B. cereus*, a qual encontra-se inserida no grupo de bactérias que desenvolvem esporos, sendo relacionadas a surtos de intoxicação alimentar.

Considerando estes fatores, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial e extrato bruto da folha e fruto de *Schinus molle* frente as cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Bacillus cereus* ATCC 10876, buscando avaliar a antimicrobiana frente a estes patógenos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FITOTERAPIA

A fitoterapia origina-se do grego *therapeia* (tratamento), é o estudo das plantas medicinais e suas aplicações na cura das doenças (TORQUATTO, 2013). Trata-se de uma prática que, provavelmente, originou-se na pré-história, quando os homens descobriram as propriedades curativas das plantas por meio da observação do comportamento dos animais na cura de suas feridas e doenças (FERRO, 2006). Tornou-se uma prática generalizada na medicina popular e é considerada como um saber utilizado e difundido pelas populações ao longo das gerações. Mesmo fazendo parte de uma cultura popular, o interesse pela fitoterapia teve um aumento considerável entre os usuários, pesquisadores e serviços de saúde (TOMAZZONI, NEGRELLE, CENTA, 2006).

A utilização das plantas para o tratamento de doenças no Brasil teve inspiração da civilização africana, indígena e européia (DE ALMEIDA, 2003). As plantas eram usadas tanto em rituais religiosos quanto em ações farmacológicas (DE ALMEIDA, 2003). Com a chegada dos europeus ao Brasil todos esses conhecimentos em relação às plantas medicinais foram passadas às demais gerações, sendo utilizadas tanto na alimentação quanto nos processos medicamentosos (TOMAZZONI, NEGRELLE, CENTA, 2006).

As plantas medicinais possuem princípios ativos, ou seja, compostos químicos produzidos durante o metabolismo da planta, que lhe conferem a ação terapêutica (WAGNER; WISENAUER, 2006). Sua utilização não é isenta de efeitos colaterais, interações medicamentosas ou contraindicações, podendo apresentar substâncias que são tóxicas, desencadeando reações adversas (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006). São consideradas plantas medicinais as que possuem substâncias com ação terapêutica em diversos órgãos ou que são o início para a síntese de produtos químicos ou farmacêuticos (MARTINS *et al.*, 2000; TOLEDO *et al.*, 2003). Os compostos quimicamente ativos responsáveis pela ação terapêutica são denominados “princípios ativos” (MARTINS *et al.*, 2000).

Várias espécies vegetais são usadas devido às suas características antimicrobianas, através de componentes sintetizados pelo metabolismo da planta, tais produtos são conhecidos por possuírem substâncias ativas, como por exemplo os compostos fenólicos, os quais compõem os óleos essenciais e os taninos (LOGUERCIO *et al.*, 2005; WITT, 2005). A utilização de plantas medicinais, combinada aos processos infecciosos, tem impulsionado

vários estudos químicos e farmacológicos, com o objetivo de obter novos compostos com propriedades terapêuticas (HAIDA *et al.*, 2007; TOLEDO *et al.*, 2003). A espécie *Schinus molle* vem sendo usada como repelente de insetos e analgésico, além de apresentar possível propriedade inibidora contra enzimas-chave na hipertensão arterial, possuindo ainda características antiespasmódica, anti-reumática, anti-inflamatória e cicatrizante (MELLITZ, 2017; RANILLA *et al.*, 2010; PIVA, 2002).

A fitoterapia ganha um grande destaque no ano de 1978 com a Declaração de Alma-Ata. Por ela passou-se a reconhecer o uso de plantas medicinais e de fitoterápicos com o objetivo de profilaxia, curativa e paliativa. Desse modo, a Organização Mundial da Saúde considerou, oficialmente, o uso de plantas medicinais no tratamento de doenças, valorizando-se, conseqüentemente, as pesquisas e conhecimentos sobre as plantas (IBIAPINA *et al.*, 2014; SILVA; ANDRADE, 2006).

2.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Sabe-se que as bactérias que causam prejuízos à saúde humana possuem resistência à maioria dos antimicrobianos (HAIDA *et al.*, 2007). Várias medidas tecnológicas são sugeridas para solucionar o problema da resistência das bactérias, sendo uma delas a procura de novos antimicrobianos a partir de espécies vegetais (HAIDA *et al.*, 2007). Conforme Novaes *et al.* (2003) os vegetais são considerados como importantes fontes de novos medicamentos, pois a variedade molecular dos produtos vegetais são mais significativos às derivadas dos processos de síntese química, sendo crescente a utilização de plantas como elementos de pesquisas científicas devido as suas propriedades, principalmente suas atividades antimicrobianas.

Os óleos, essências e os extratos nas plantas apresentam a função de proteção contra bactérias, vírus e fungos (ANDRADE *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2010). Substâncias presentes nos mesmos podem apresentar variações de acordo com a forma de extração, clima, composição do solo, idade e estágio do ciclo vegetativo (ANDRADE *et al.*, 2010). Para o tratamento de infecções causadas por bactérias, a medicina alternativa está buscando medicamentos terapêuticos a base de produtos naturais, principalmente os derivados de plantas (ARAUJO; LONGO, 2016).

A avaliação da susceptibilidade a antimicrobianos pode ser avaliada por meio da técnica de determinação da concentração mínima inibitória. A interpretação dos resultados obtidos podem ser considerados quanto as características farmacológicas dos antimicrobianos

e a concentração mínima a ser alcançada (BRITO *et al.*, 2001). É um método de microdiluição, com boas vantagens, como técnica simples, rápida, alto rendimento, custo econômico, maior sensibilidade e quantidades mínimas quando se refere a produtos naturais (ROZATTO, 2012). Além desta análise, há também o ensaio de Time-Kill, o qual comprova o tempo em que a substância-teste leva para inibir as células microbianas (MITCHELL *et al.*, 2012; ROZATTO, 2012).

2.3 S. AUREUS E B. CEREUS

S. aureus (Figura 1) é considerada como uma bactéria Gram-positiva oriunda da família Micrococaceae, medindo cerca de 0,5 a 1,0 μm , formando-se agrupamento em massas irregulares, como cachos de uva. São anaeróbios facultativos, mesófilos, com temperatura de desenvolvimento em torno de 30° a 37°C. Certas infecções podem ter origens endógenas, fornecidas do próprio indivíduo, ou de fontes exógenas, proveniente de fatores associados ao meio, como agressões, contato físico direto, fluidos contaminados ou vias aéreas (ARAUJO; LONGO, 2016).

Tanto o homem quanto os animais são considerados os principais depósitos de *S. aureus*. A cavidade nasal é o grande local onde se encontram os estafilococos no homem e, a partir dele chegam aos demais locais do corpo, além de se encontrar no ar, água, solo ou qualquer área que tenha entrado em contato com o homem (BROOKS *et al.*, 2014).

De acordo com Manappallil (2017) o *S. aureus* é um micro-organismo responsável por infecções hospitalares e disseminação de doenças na comunidade, que pode se manifestar desde processos infecciosos leves até infecções graves que causam risco de morte (MANAPPALLIL, 2017). Uma consequência de seus fatores de virulência são a capacidade de colonização e a patogenicidade deste micro-organismo, além de que o seu alto potencial infeccioso não está restrito apenas à sua facilidade de multiplicação e disseminação nos tecidos, mas também à produção de moléculas com grande poder patogênico, que incluem enzimas e toxinas (DOS SANTOS *et al.*, 2007).

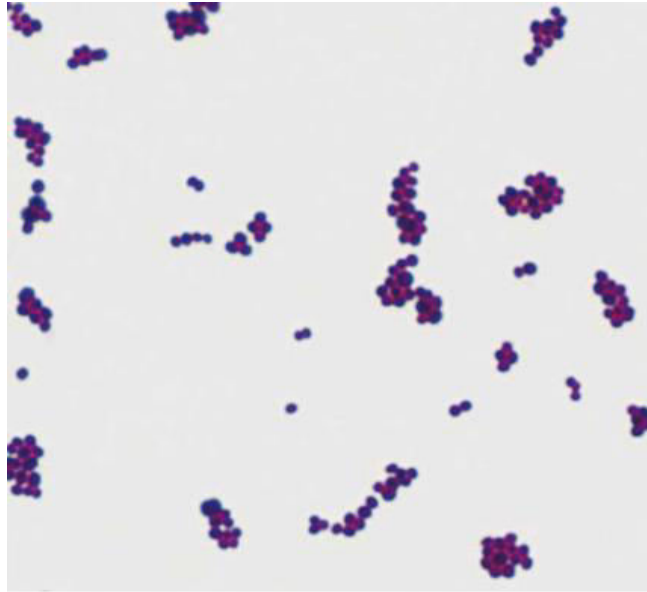


Figura 1 - Coloração de *S. aureus* pelo método de Gram.

Fonte: BROOKS *et al.*, 2014, p. 200.

Outra bactéria de grande importância etiológica é o *B. cereus* (Figura 2), a qual encontra-se inserida no grupo de bactérias que desenvolvem esporos, sendo relacionadas a surtos de intoxicação alimentar. Devido a gravidade, há muitas pesquisas e estudos com o objetivo de determinar os fatores de virulência, como as toxinas emética e diarréica (PAIVA *et al.*, 2009).

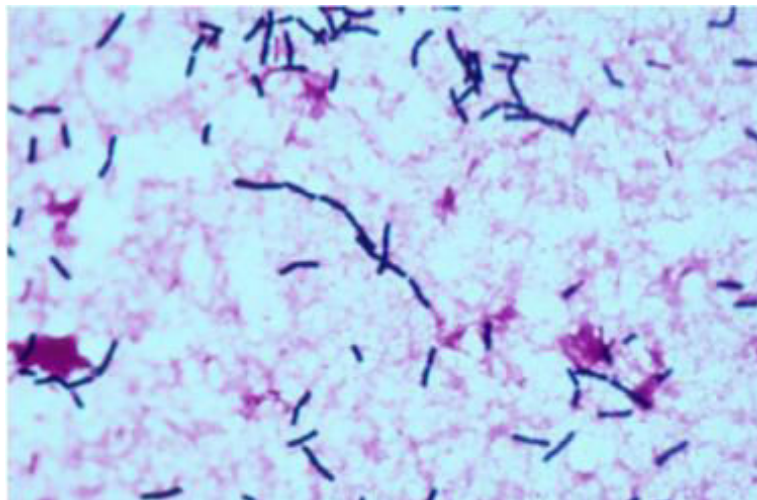


Figura 2 - Coloração de *B. cereus* pelo método de Gram.

Fonte: BOTTONE, 2010, p. 383.

B. cereus é uma bactéria que faz parte da família Bacillaceae, sendo apresentada em forma de bastão, é Gram-positiva, aeróbica facultativa, móvel e forma esporos esféricos na presença de oxigênio. Para o seu crescimento a temperatura mínima varia aproximadamente de 4 a 5°C, com máxima para germinação em torno de 48 a 50°C (PAIVA *et al*, 2009).

Os esporos de *B. cereus* lhe conferem resistência a altas temperaturas, secagem, e a alguns sanitizantes químicos e radiações ionizantes, como a UV, além de contribuir para os processos de adesão em superfícies (KOTIRANTA; LOUNATMAA; HAAPASALO, 2000).

Essa bactéria torna-se resistente devido a sua estrutura morfológica, pois possui uma região central onde se localizam os elementos genéticos, juntamente com as enzimas úteis a germinação e crescimento inicial do esporo. Essa resistência unida à sua habilidade de produzir uma grande variedade de enzimas que degradam diversos substratos orgânicos, faz com que a bactéria seja distribuída de forma ampla no meio ambiente, e o solo considerado o reservatório natural (BLACKBURN; MCCLURE, 2000).

B. cereus é considerada uma bactéria patogênica devido a destruição de tecido pela ação de exoenzimas produzidas por este micro-organismo. Dentre elas destacam-se quatro hemolisinas, três fosfolipases distintas, uma toxina emética, e três enterotoxinas formadoras de poros (BOTTONI, 2010; EHLING-SCHULZ *et al.*, 2006). Esta bactéria *B. cereus* tem sido relacionada com intoxicações alimentares na Europa desde o ano de 1906. No entanto, somente em 1950 este bacilo foi considerado como causador de enfermidades transmitidas por alimentos (JAY, 2005).

Conforme Blackburn; McClure (2000), o *B. cereus* é usualmente encontrado em mantimentos secos como, por exemplo, temperos, farinhas, leite em pó, na forma de esporos e resistentes ao calor, uma vez que a reidratação destes alimentos dará condições viáveis a sua germinação. Dentre as diferentes formas de processamento térmico, o cozimento em vapor sob pressão, a fritura e o assar em forno a temperaturas superiores a 100 °C pode contribuir para eliminar quase todas as células vegetativas, no entanto, parte dos esporos pode não ser extintos em decorrência da sua capacidade de germinação em temperaturas acima de 100°C (BLACKBURN; MCCLURE, 2000).

2.4 SCHINUS MOLLE

A espécie *S. molle* L. (Figura 3), popularmente conhecida como aroeira vermelha ou aroeira mansa, é um espécie nativa do sul do Brasil, pertencente à Família Anacardiaceae. É uma árvore muito cultivada na arborização urbana e no paisagismo em geral no sul e sudeste

do país. Possui uma ampla história de uso na medicina tradicional em toda a América do Sul (LORENZI & MATOS, 2002). Possui substâncias que indicam propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antiespasmódicas, antipiréticas, anti-inflamatórias (MARONGIU *et al.*, 2004).



Figura 3 - *S. molle*

Fonte: AS PLANTAS MEDICINAIS, 2018.

A *S. molle* trata-se de uma espécie de árvore com altura que pode variar entre 4 a 8 metros e tronco com 25 a 35 cm de diâmetro, o qual é revestido por casca grossa e escamosa. As folhas (Figura 4) são compostas, possuindo entre 9 a 25 folíolos linear-lanceolados a lineares e de margens serreadas. Suas flores são de cor amarela e reunidas em inflorescências, enquanto os frutos são do tipo drupas globosas e de coloração avermelhada (INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORESTAS, 2018).



Figura 4 - Folha do *S. molle*

Fonte: UTAD JARDIM BOTÂNICO, 2018.

As flores podem desenvolver até 30 cm de comprimento, suas pétalas, geralmente, medem cerca de 2 mm de comprimento, possuindo cor amarela e desenvolvem-se para formar frutos com bagas de cor rosa (Figura 5). Estes frutos são pequenos, arredondados e desenvolvem-se inicialmente de verde para rosa e, posteriormente, para preto (ORWA *et al.*, 2009).



Figura 5 - Frutos do *S. molle*

Fonte: UTAD JARDIM BOTÂNICO, 2018.

Na medicina natural todas as partes da aroeira são utilizadas e além do seu emprego fitoterápico, ela é utilizada como antisséptico no caso de fraturas e feridas expostas. Além dessas atividades, o óleo essencial extraído desta planta tem potencial antimicrobiano, como também atividade repelente contra a mosca doméstica, sendo um composto rico em monoterpenos, eficaz em micoses, candidíase e até no tratamento de alguns tipos de câncer. Adicionalmente é uma planta que possui ação regeneradora dos tecidos, queimaduras e problemas de pele, utilizada também contra manchas, urticárias e fabricação de sabonetes e géis (AS PLANTAS MEDICINAIS, 2018).

2.5 FAMÍLIA ANACARDIACEAE

A Família Anacardiaceae tem em torno de 81 gêneros e 800 espécies, as quais se localizam tanto em ambientes secos quanto úmidos, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo, compreendendo até as regiões temperadas (PELL *et al.*, 2011).

Destes gêneros, cerca de 32 gêneros nativos são encontrados nas Américas e 77% das espécies desta família são endêmicas da América do Norte, sendo apenas os gêneros *Antrocaryon*, *Camptosperma*, *Cotinus*, *Pistacia*, *Rhus*, *Spondias* e *Toxicodendron* encontrados também em outros continentes (TERRAZAS, 1999). No Brasil, existem 14 gêneros com 57 espécies de Anacardiaceae registrados, sendo que 14 delas são restringidas ao país (SILVA-LUZ ; PIRANI, 2010).

Aproximadamente 25% das plantas dos gêneros desta família são qualificadas como tóxicas e causadoras de dermatite de contato devido à presença de compostos fenólicos e catecólicos que, em compensação, são substâncias que possuem inúmeras aplicações e usos populares, sendo empregadas tradicionalmente como cicatrizantes, estomáquicos e antidiarreicos, pela presença de taninos e óleos-resinas (JUDD *et al.*, 1999; LORENZI, 2002).

Nesta Família Anacardiaceae encontra-se o gênero *Schinus molle* L., uma espécie de planta usada na medicina tradicional com características, antifúngicas, anti-inflamatórias, cicatrizantes e antimicrobianas, além de seu óleo ser empregado na indústria farmacêutica como fonte de muitos fármacos (MELLITZ, 2017).

2.6 PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DO OLÉO ESSENCIAL DE *S. MOLLE*

Para o processo de tratamento de enfermidades, as plantas medicinais são consideradas importantes fontes terapêuticas, sendo utilizadas através do conhecimento popular cultural, quanto na criação de medicamentos fitoterápicos (FREITAS, 1999).

O uso de diferentes espécies de plantas como fonte de produtos naturais é responsável pelo desenvolvimento da medicina caseira, a qual, por sua vez, tem incentivado novos estudos com o intuito de encontrar princípios ativos capazes de beneficiar a área da saúde (FREITAS, 1999; TOLEDO, 2003).

Nas folhas de *S. molle* são encontrados óleos essenciais rico em mono e sesquiterpenos, destacados na medicina popular. Em junção de inúmeras propriedade possui ação antifúngica, antiespasmódica, antipirética, anti-inflamatória, cicatrizantes e antimicrobianas (BARROSO *et al.*, 2009).

Os óleos essenciais são combinações de elementos químicos, podendo ser obtidos por diferentes processos, os quais dependem de sua forma na natureza para a extração adequada de cada óleo (GRAMOLELI JÚNIOR *et al.*, 2006).

São considerados como misturas de substâncias voláteis, em sua grande maioria apresentam-se na forma aromática e líquida. Elaborados a partir de folhas, raízes, cascas e sementes, contendo suas principais propriedades como cheiro e o sabor (BARROSO *et al.*, 2009).

As folhas e frutos de *S. molle* apresentam óleos essenciais picantes, geralmente usados na medicina popular, sendo aprimorada na Costa Rica como “chile” ou “pimenta da Califórnia”. Trata-se de uma substância que apresenta propriedades comuns, como antimicrobianas, antifúngicas, anti-inflamatórias, antiespasmódicas, antipiréticas e cicatrizantes (TORRES, 2016; DOS SANTOS *et al.*, 2007).

A formação química do óleo essencial, principalmente, de hidrocarbonetos monoterpênicos. Entretanto, a composição química e estrutural de plantas de mesma espécie poderá depender de algumas condições, como estado fenológico da planta, fatores geográficos, ecológicos, variabilidade genética, processo de extração empregado, dentre outros (TORRES, 2016).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial e extratos brutos (folha e fruto) de *S. molle* frente as cepas de *S. aureus* e *B. cereus* ATCC.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial e dos extratos bruto da folha e do fruto de *S. molle* sobre frente à *S. aureus* ATCC 29213 e *B. cereus* ATCC 10876, através da concentração inibitória mínima, pela metodologia de microdiluição em microplacas de 96 orifícios.
- Avaliar a curva de sobrevivência de *S. aureus* e *B. cereus* frente à exposição do óleo, extratos brutos de *S. molle*, pelo ensaio de Time-Kill.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. PRODUTOS VEGETAIS

O óleo essencial e extratos bruto de *S. molle* utilizados neste estudo foram produzidos por pesquisadores do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (PGRN-UEMS). O óleo essencial e os extratos bruto de *S. molle* foram obtidos por hidrodestilação em Clevenger durante 1 h (Farmacopéia Brasileira, 1988). Foram analisadas as folhas e os frutos desidratados em secador de ervas, a 36 °C, ventilação forçada de ar e controle de umidade. A extração foi executada em laboratório e além disso foi realizada a análise química utilizando cromatografia gasosa e espectrometria de massa (CG-MS) com a qual foi possível a identificação das espécies químicas majoritárias do óleo essencial (BARROS & VARGAS, 2009).

4.2. MICRO-ORGANISMOS

Para esta pesquisa foram utilizadas cepas microbianas provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 e *Bacillus cereus* ATCC 10876.

4.3. MEIOS DE CULTURA

Para garantir a viabilidade dos micro-organismos em estoque, foi utilizado o Caldo de enriquecimento *Brain Heart Infusion*. As cepas foram cultivadas em meio ágar Muller-Hinton. Os meios de cultura foram preparados de acordo com as especificações do fabricante DIFCO®.

4.4. PREPARO DOS INÓCULOS

Após o enriquecimento em Caldo BHI, uma alíquota de cada crescimento foi semeada através da técnica de esgotamento por estrias em ágar Muller Hinton e incubado a 37°C por 24 horas, permitindo dessa forma que os micro-organismos estivessem em crescimento exponencial, o que garante segurança maior durante a realização da análise. Após esse período de incubação foram suspensas em solução salina estéril 0,9% até atingirem a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala de MacFarland (aproximadamente $1,0 \times 10^8$ UFC/mL),

originando uma suspensão microbiana padrão (CLSI, 2017). Em seguida foram misturados 1000µL do óleo essencial ou extratos bruto mais 500µL de meio BHI e mais 500µL de inóculo do micro-organismo em tubos falcons, obtendo um volume total de 2000µL de solução, denominada de solução-teste, qual foi utilizada nos ensaios.

4.5. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

4.5.1. Concentração inibitória mínima (CIM)

A CIM para *S. aureus* e *B. cereus* foi determinada pela técnica de diluição em microplacas (96 orifícios) de acordo com a metodologia descrita segundo a norma *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2017). A inibição do crescimento microbiano foi evidenciada pela ausência de crescimento no meio, sendo considerada a CIM a menor concentração do óleo essencial capaz de inibir o crescimento de 90% das cepas (HAWSER & ISLAM, 1999; HÖRNER *et al.*, 2008). Os crescimentos dos micro-organismos foram indicados por turbidez e resazurina. A CIM foi definida como a concentração mais baixa do óleo essencial e extratos bruto em que não houve crescimento microbiano visível após 24 horas de incubação a 37° C.

4.5.2. Ensaio de Time-Kill

O ensaio Time-Kill foi realizado de acordo com a metodologia descrita segundo a norma do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (CLSI, 2017) e avaliado a partir da CIM determinada nos testes de microdiluição e duas vezes a CIM obtida pelos produtos vegetais analisados. Para a realização dos ensaios, uma alíquota de 10µL da solução-teste (micro-organismo a aproximadamente 10⁸ UFC/mL) foi retirada e plaqueada em meio de AMH para as duas bactérias, com o auxílio de alça de Drigalski. Foi realizado o mesmo procedimento para todos tempos de contato (4, 8, 12 e 24 horas), as placas e os tubos foram incubados à temperatura de 35 ± 2 °C por 24 horas. Após o período de incubação, foi verificado o crescimento microbiano. Os ensaios foram executados em duplicata e após cada tempo de amostragem, as colônias foram contadas manualmente e marcadas por caneta permanente de cor azul. Houve atividade antimicrobiana satisfatória apenas quando não teve crescimento microbiano durante o período de 24 horas.

5. RESULTADOS

5.1 MÉTODO DE MICRODILUIÇÃO

A atividade antimicrobiana do óleo essencial e dos extratos bruto (folha e fruto) de *S. molle* foi avaliada e com esses resultados, foi assim determinada, a Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente a cada micro-organismo avaliado neste estudo.

O óleo essencial para a cepa de *S. aureus* apresentou CIM de 0,562mg/mL e para *B. cereus* 4,5mg/mL tanto para a leitura com resazurina quanto para a leitura espectrofotométrica. O extrato bruto da folha para a cepa de *S. aureus* apresentou CIM de 31,25mg/mL e para *B. cereus* 62,5mg/mL com a leitura da resazurina. Já o extrato bruto do fruto para a cepa de *S. aureus* apresentou CIM de 62,5mg/mL e para *B. cereus* 125mg/mL com a leitura da resazurina (Tabela 1).

Os resultados de CIM da atividade antimicrobiana mostraram que o óleo essencial e os extratos bruto *S. molle* demonstraram concentrações mínimas inibitórias muito elevadas, contudo o óleo essencial e os extratos bruto apresentaram menores CIM para *S. aureus* do que para *B. cereus*, uma vez que apenas a CIM do óleo essencial para *S. aureus* se encaixa em uma CIM moderada/satisfatória segundo os padrões de classificação de concentração inibitória mínima.

Tabela 1- Concentração inibitória mínima (CIM) do óleo e dos extratos (folha e fruto) de *S. molle*.

Amostras testadas	CIM (mg/mL)	
	Micro-organismos	
	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>
Óleo	0,562	4,5
Extrato da folha	31,25	62,5
Extrato do fruto	62,5	125

5.2. ENSAIOS DE TIME-KILL

O ensaio Time-Kill foi realizado com o óleo e os extratos da folha e do fruto de *Schinus molle* para determinar em quanto tempo cada composto age inibindo o crescimento de *S. aureus* e *B. cereus*. Estes resultados estão apresentados nos gráficos de 1 a 3.

Foi observado que entre 4 e 12 horas, tanto o óleo essencial como os extrato bruto da folha e do fruto foi capaz de cusar um pequeno decréscimo do número de unidades formadoras de colônias (UFC's) para a cepa de *S. aureus*.

Em contrapartida para as cepas de *B. cereus*, os resultados de todos os compostos não demonstraram decréscimo considerável ao número de UFC's, em quase nenhum tempo de amostragem, exceto para o extrato do fruto, até as primeiras 8 horas de teste. Sendo assim, foi observado que os compostos naturais não apresentaram inibição do crescimento microbiano da cepa de *B. cereus*.

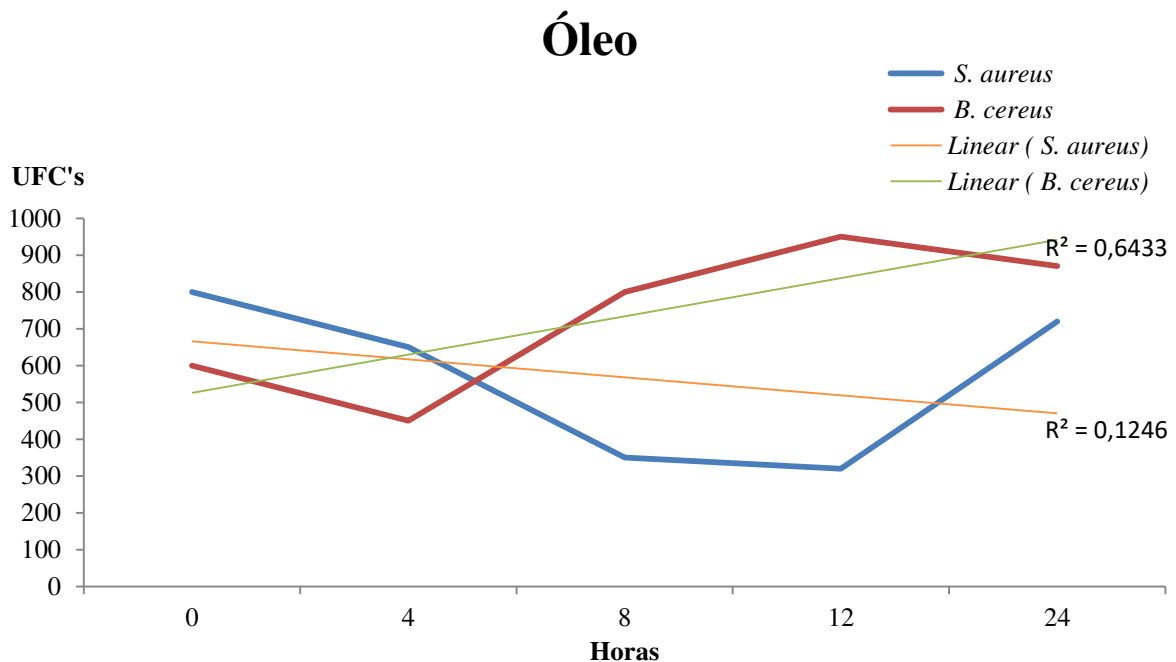


Figura 6 - Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *S. molle* frente *S. aureus* e *B. cereus* pelo ensaio Time-Kill.

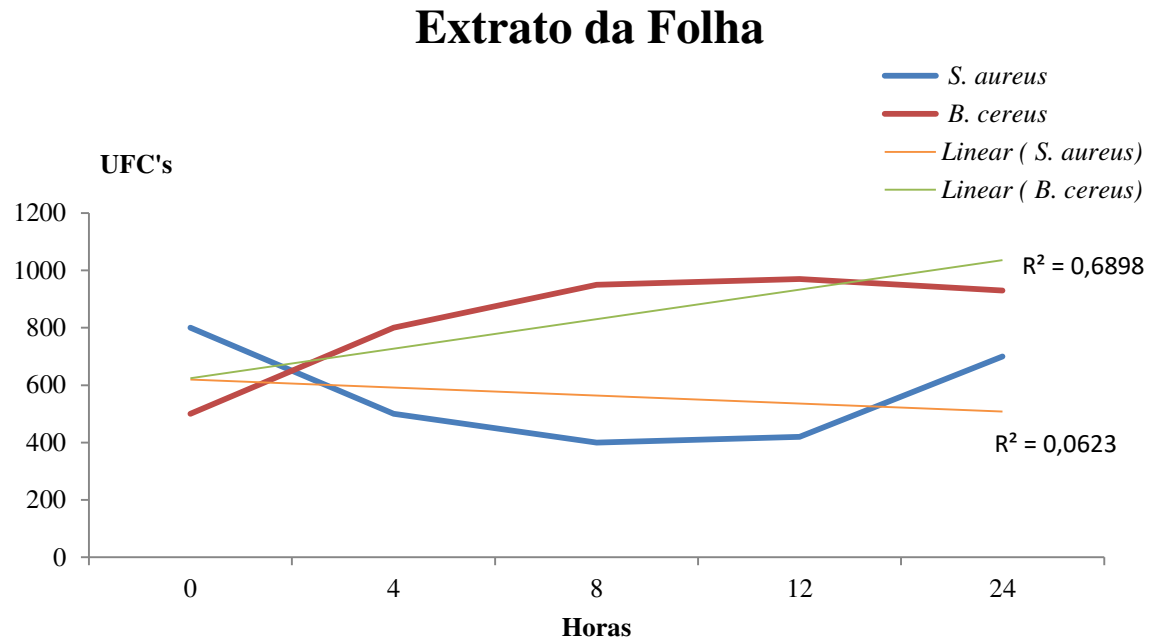


Figura 7 - Atividade antimicrobiana do extrato bruto da folha de *S. molle* frente *S. aureus* e *B. cereus* pelo ensaio Time-Kill.

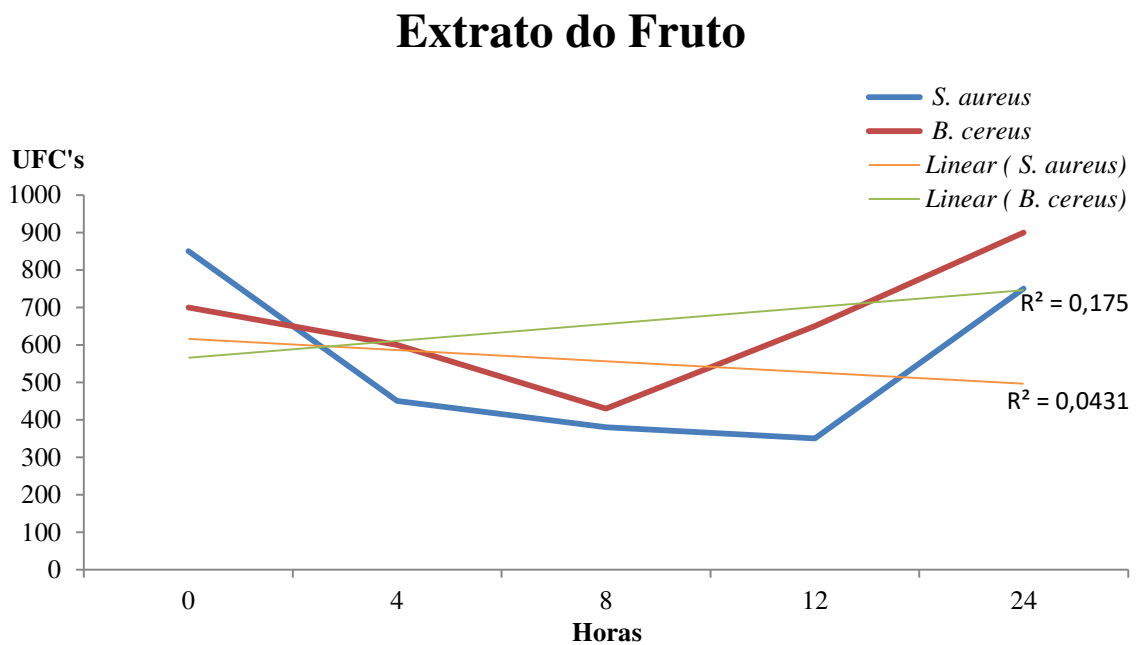


Figura 8 - Atividade antimicrobiana do extrato bruto do fruto de *S. molle* frente *S. aureus* e *B. cereus* pelo ensaio Time-Kill.

6. DISCUSSÃO

Com tamanha diversidade, as plantas apresentam uma gama de variedade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas. Isso pode ser confirmado com o crescente interesse de indústrias na síntese de fármacos a partir destas fontes naturais (ROZATTO, 2012). Além de ser considerado um recurso extremamente viável, os produtos naturais sempre foram primordiais para o descobrimento de novas drogas e fornecedores de princípio ativo para o desenvolvimento de fármacos sintéticos e econômicos, frente à doenças em países que ainda estão em desenvolvimentos e a maioria das drogas são importadas e possuem custos elevados (FERNANDES, 2014).

Os óleos, extratos, frações e compostos isolados geralmente extraídos destas fontes são alvos de vários pesquisadores que buscam estudar e avaliar as propriedades mais significativas, entre estas a atividade antimicrobiana (DUARTE *et al.*, 2007).

A família Anacardiaceae caracterizada pela produção de grande quantidade de taninos, além de possuir em sua composição compostos fenólicos conhecidos como cardanóis, que apresentam atividade moluscicida e antibacteriana (MAZZA *et al.*, 2000). Trata-se de uma família com ocorrência pantropical e não inclui muitos representantes de outras regiões. Compreende cerca de 70 gêneros e 600 espécies, as quais muitas dessas possuem importância alimentar, como manga (*Mangifera indica* L.), caju (*Anacardium occidentale* L.), serigüela (*Spondias mombin* L.) e pistache (*Pistacia vera* L.) (DO ROCIO DUARTE *et al.*, 2006). Contudo muitas espécies despertam interesses além dos nutricionais, apresentando potencial medicinal, sendo empregadas como cicatrizante, estomáquico e antidiarréico, pela presença de taninos e óleo-resinas, a exemplo de caju-do-cerrado (*Anacardium humile* A. St.-Hil.), arendiúva (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) e pimenteiro (*Schinus molle* L.) (ALONSO, 1998; DO ROCIO DUARTE *et al.*, 2006).

De acordo com os resultados da CIM, as amostras analisadas demonstraram que tanto o óleo essencial como os extratos bruto apresentaram CIM muito elevadas para os microorganismos do estudo, exceto o óleo essencial frente a *S. aureus*, que apresentou uma CIM baixa. Apesar de obter resultados de CIM com valores muito variados de um microorganismo para outro, não há uma classificação consensual sobre os valores de CIM, na literatura. Aligiannis e colaboradores (2001) apresentaram a seguinte classificação: CIM até 0,5mg/mL são inibidores potentes; CIM entre 0,6 e 1,5mg/mL são inibidores moderados; CIM acima de 1,6mg/mL são inibidores fracos. Enquanto Webster e colaboradores (2008)

estipularam um valor de CIM satisfatório entre 1mg/mL ou menos. Caracterizando em base nas duas classificações, apenas o óleo essencial de *S. molle* é inibidor moderado/satisfatório com CIM = 0,562mg/mL para *S. aureus*. Adicionalmente, todos os outros resultados de CIM se enquadram abaixo de inibidores fracos ou não satisfatórios (com CIM \leq 1mg/mL) (ALIGIANNIS *et al.*, 2001; WEBSTER *et al.*, 2008; ROZATTO, 2012).

A metodologia de microdiluição é bastante utilizada na determinação da atividade antimicrobiana. É uma técnica sensível, de elevado rendimento, o que pode proporcionar a análise de pequenas amostragens, sendo esta uma das principais vantagens da sua utilização quando se refere a amostras de fontes vegetais. Com a possibilidade de avaliar mais de uma amostra e com diversidade de micro-organismos em um mesmo teste de ensaio. Somatoriamente, produz resultados quantitativos e a concentração inibitória mínima (CIM) dos produtos analisados em estudo (ROZATTO, 2012; SALAZAR-ARANDA *et al.*, 2009; PALOMBO, 2011).

A atividade antimicrobiana obtida por meio dos óleos essenciais pode ser apresentada de três maneiras: quando há interferência na dupla camada fosfolipídica da parede celular da bactéria, pelo aumento da permeabilidade e perda dos constituintes celulares, e por alteração de uma variedade de sistemas enzimáticos como os envolvidos na produção de energia celular e síntese de componentes estruturais ou destruição do material genético (ZACARÃO, 2013).

A busca pela explicação do efeito antimicrobiano de *S. molle* ser satisfatório apenas frente a ação de um micro-organismo, baseia-se no estudo de Zacarão e Piletti (2013), em que foi avaliado o potencial de OE de pimenta rosa (*Schinus molle*) frente a linhagens de *S. aureus* e *Escherichia coli*, onde pode comparar os efeitos do óleo essencial e concluiu que *S. aureus* demonstrou maior susceptibilidade, enquanto para inibir o crescimento de *E. coli* necessitou-se de concentrações maiores. Uma explicação plausível para este comportamento pode ser as diferenças na estrutura da parede bacteriana das bactérias gram-positivas (ausência de lipopolissacarídeo) e das bactérias gram-negativas (presença de lipopolissacarídeos), como consequência bactérias gram-negativas apresentam maior resistência à ação de agentes antimicrobianos devido a sua membrana que forma uma barreira contra as macromoléculas hidrofóbicas presentes em alguns óleos essenciais e antibióticos. Resultados semelhantes já foram descritos para este mesmo óleo essencial com outros micro-organismos (KALEMBA, 2003).

É válido, no entanto, que mais estudos sejam explorados e que dê continuidade com esta espécie vegetal partindo-se de outros métodos de extração e/ou o emprego de outros

solventes para obter amostras com outros componentes químicos ou em concentrações distintas dos extratos utilizados neste estudo.

Neste estudo foi realizado os ensaios de Time-Kill do óleo essencial e dos extratos bruto da folha e do fruto diluídos para as cepas ATCC de *S. aureus* e *B. cereus*, em duplicata. O resultado geral não foi significativo, pois não foi obtida a inibição completa do crescimento de ambos micro-organismos durante o período de 24 horas. Entretanto pode-se observar pelas figuras (6 a 8) que apenas para *S. aureus* observou-se um pequeno decréscimo no número de UFC's durante os intervalos de 4 e 8 horas com todos as amostras testadas e posteriormente elevado crescimento microbiano. Para as cepas de *B. cereus* observa-se que para qualquer que seja composto em teste, na maioria dos tempos de amostragem, não se percebe inibição algum no crescimento microbiano.

Efeitos sinérgicos com drogas antimicrobianas e compostos naturais já foram descritos, ou seja, os compostos tiveram sua atividade potencializada com antibióticos convencionais, e em seguida seus resultados são comparados com os testes realizados com as substâncias isoladamente (MITCHELL *et al.*, 2012; KUMAR *et al.*, 2012; ROZATTO, 2012).

Outros estudos com *S. molle* comprovaram que a casca tem propriedades depurativas usada contra infecções uterinas em geral, sendo muito usada no tratamento de diarreias e nas hemoptises (DOS SANTOS *et al.*, 2007). Do seu o chá, tem-se efeito contra reumatismo e infecções bacterianas como edema do tipo erisipela. Os ramos são empregados no tratamento de doenças respiratórias e doenças das vias urinárias, enquanto as folhas têm propriedades balsâmicas destacadas na forma de infusão, banhos tônicos e loções no tratamento de úlceras, erupções e feridas (BARROSO *et al.*, 2009; TORRES *et al.*, 2016). Dos folíolos obtém-se substâncias cicatrizantes, os frutos, possuem propriedades diuréticas. Em tese todas as partes dessa espécie possuem fins medicinais (TORRES *et al.*, 2016).

O crescente interesse em investigar e caracterizar compostos de origem vegetal e suas atividades biológicas são justificadas pela ampla diversidade de princípios ativos presentes nas plantas que podem ser auxiliadas para tratar infecções crônicas bem como doenças infecciosas, aumento da resistência microbiana aos medicamentos, presença de efeitos adversos nas drogas sintéticas, garantia de segurança e eficácia com menor efeito colateral de medicamentos fitoterápicos, o custo reduzido e o aumento de doenças emergentes (ALBERNAZ *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2012; ROZATTO, 2012).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho demonstrou que não houve atividade antimicrobiana de *S. molle*, através da metodologia de Time-Kill, contra as cepas ATCC de *S. aureus* e *B. cereus*. No entanto, na literatura há estudos que comprovem a eficiência da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Schinus molle* contra bactérias Gram-negativas, além de apresentarem menores concentrações inibitórias mínimas.

Os efeitos do óleo essencial de *S. molle* também podem ser observados quando atuam como aditivo alimentar, pois em estudos com objetivo de controlar o desenvolvimento de micro-organismos em queijo Minas Frescal, que este óleo se mostrou uma alternativa tecnologicamente viável para utilização das propriedades antimicrobianas e notou-se que o óleo essencial pode ser um diferencial positivo no sabor de alguns produtos tradicionais. Além disto, o queijo Minas Frescal adicionado de óleo essencial de *S. molle* foi um produto inovador com características sensoriais aprovadas pelos julgadores.

Outros métodos de extração de óleo essencial e extratos bruto devem ser investigados com o objetivo de se comparar a composição do composto obtido e o rendimento de extração. A atividade antimicrobiana foi realizada utilizando apenas *S. aureus* e *B. cereus*, dessa forma novos estudos devem ser conduzidos a fim de se verificar o comportamento deste óleo essencial com outros micro-organismos.

Mais estudos, também, são necessários para avaliar o potencial sinérgico destes compostos em associação com antibióticos comerciais, visando a obtenção de um novo fitoterápico ou mesmo um medicamento sintético produzido a partir de seus compostos.

8. REFERÊNCIAS

- ALBERNAZ, L. C. *et al.* **Investigation of plants extracts in traditional medicine of the Brazilian Cerrado against protozoans and yeasts.** Journal of Ethnopharmacology, v. 131, n. 1, p. 116-121, 2010.
- ALIGIANNIS, N. *et al.* **Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 40, p. 4168-4170, 2001.
- ALONSO, J. R. **Treatise on phytomedicine – bases clínicas y farmacológicas.** Buenos Aires: Isis, p. 186-9, 1998.
- ANDRADE, D. M. *et al.* **Long-term follow-up of patients with thalamic deep brain stimulation for epilepsy.** Neurology, v. 66, n. 10, p. 1571-1573, 2006.
- ANDRADE, M. A. *et al.* **Óleo essencial de *Cymbopogon nardus*: caracterização química e antibacteriana.** In: 50º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA: AGROINDÚSTRIA, QUALIDADE DE VIDA E BIOMAS BRASILEIROS, 2010, Cuiabá, MT. Anais... Cuiabá, MT, 2010.
- ARAUJO, M. M.; LONGO, P. L. **Teste de ação antibacteriana *in vitro* de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.** Arquivos do Instituto Biológico, v. 38, 2016. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1808-16572016000100220 Acesso em 04 de mar 2018.
- AS PLANTAS MEDICINAIS. **Aroeira – *Schinus molle*.** 2011. Disponível em: <http://www.asplantasmediciniais.com/aroeira-schinus-molle.html> Acesso em 24 de fev 2018.
- BARROS, MST; VARGAS, RMF. **Óleo essencial de *Schinus molle* L.: extração por arraste a vapor, modelagem matemática e análise química.** SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA PUCRS, v. 10, p. 69, 2009.
- BARROSO, M. S. T.; *et al.* **Óleo essencial de *Schinus molle* L.: extração por arraste a vapor, modelagem matemática e análise química.** Rio Grande do Sul. In: 10 SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA PUCRS, 2009, Rio Grande do Sul. Capturado em 10 de Nov. de 2011. Disponível em: [http://www.pucrs.br/edipucrs/XSalaoIC/Engenharias/Engenharia_Quimica/70631-MAUREAN_SALLY_TAVARES_BARROSO.pdf](http://www.pucrs.br/edipucrs/XSalaoIC/Engenhar%20ias/Engenharia_Quimica/70631-MAUREAN_SALLY_TAVARES_BARROSO.pdf)
- BLACKBURN, C. ; McCLURE, P. **Foodborne pathogens: Hazards, risk analysis and control.** England: Cambridge; 513 p. 2000.
- BOTTONE, E. J. ***Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen.** Clinical Microbiology Reviews, p. 382–398. Apr. 2010. Disponível em: <http://cmr.asm.org/content/23/2/382.full.pdf+html> Acesso em 24 de fev 2018.
- BRITO, M. A. V. P., *et al.* **"Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina."** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 53.5: 531-537, 2001.

BROOKS, G. F.; *et al.* **Medical Microbiology**, Jawetz, Melnick & Adelberg. 26 ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

CALIXTO, J. B. **Biodiversity as a source of medicines**. *Ciência e Cultura*, v. 55, n. 3, p. 37-39, 2003.

CARVALHO, P. E. R. **Brazilian Arboreal Species**. **Coleção Espécies Arbóreas Brasileiras**, vol. 1. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 1.039p. 2003.

CARVALHO, P. E. R. *et al.* **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1994.

CLSI. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. Reference methods for broth dilution antifungal susceptibility tests for yeasts; approved standards, CLSI document M27-A3, Wayne, PA., 2017.

DE ALMEIDA, M. Z. **Plantas medicinais**. SciELO-EDUFBA, 2003.

DO ROCIO D., M. *et al.* **Diagnose morfoanatômica de aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*, Anacardiaceae)**. *Visão Acadêmica*, v. 7, n. 2, 2006.

DOS SANTOS, A. C. A. *et al.* **Avaliação química mensal de três exemplares de *Schinus terebinthifolius Raddi***. *Revista Brasileira Biociências*, v. 5, p. 1011-1013, 2007.

DOS SANTOS, A. L. *et al.* ***Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar**. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

DUARTE, M.C.T. *et al.* **Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli***. *Ethnopharmacology Journal*, v. 111, n. 2, p. 197-201, 2007.

DUDAREVA, N. *et al.* **Volatiles plant: recent advances and future perspectives**. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v.25, p.417-440, 2006.

EHLING-SCHULZ, M. *et al.* **Toxin gene profiling of enterotoxin and emetic *Bacillus cereus***. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters*. *Microbiology Letters* v. 260, p. 232–240, 2006.

FERNANDES, T. J. S. **Atividade antimicrobiana e determinação da CIM de extratos e fases particionadas de produtos vegetais**. 55f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)- Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014. Disponível em: <http://dspace.bc.uepb.edu.br/jspui/bitstream/123456789/4279/1/PDF%20-%20Tomás%20Jata%C3%AD%20Soares%20Fernandes.pdf> Acesso em 4 de fev 2018.

FERRO, D. **Fitoterapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Atheneu, 2006.

FREITAS, P. C. D. **Atividade antioxidante de espécies medicinais da família Piperaceae: *Pothorphe umbellata* (L) Miq e *Piper regnellii* (Miq) CDC.** Tese (Tese de Doutorado)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, São Paulo. 1999.

GRAMOLELLI JÚNIOR *et al.* **Extração de óleos essenciais e verificação da atividade antifúngica.** Revista das Faculdades de Educação, Ciências e Letras e Psicologia Padre Anchieta. Argumento- Ano VIII, n.14, maio /2006.

GUERRA, M. P. *et al.* **The diversity of plant genetic resources and the new approaches in the agronomic research.** Ciência Rural 28.3. 521-528. 1998.

HADA, K.S. *et al.* **Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais.** Arq. Ciênc Unipar Umuarama. v. 11, n. 3, p. 185-192, set./dez. 2007.

HAWSER, S.; ISLAM, K. **Comparisons of the effects of fungicidal and fungistatic antifungal agents on the morphogenetic transformation of *Candida albicans*.** Journal Antimicrob. Chemother.v. 43, n. 3, p. 411-413, 1999.

IBIAPINA, W. V. *et al.* **Inserção da fitoterapia na atenção primária aos usuários do SUS.** Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança, 2014. Disponível em: <http://www.facene.com.br/wp-content/uploads/2010/11/INSERÇÃO-DA-FITOTERAPIA-NA-ATENÇÃO-PRIMÁRIA-AOS-USUÁRIOS-DO-SUS.pdf> Acesso em 04 de mar 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORESTAS. **Aroeira. Salsa.** 2018. Disponível em: <https://www.ibflorestas.org.br/lista-de-especies-nativas/504.html> Acesso em 22 de fev 2018.

JAY, J. M. **Microbiologia dos Alimentos.** 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JUDD, W. S. *et al.* **Plant systematics: a phylogenetic approach.** Sunderland: Sinauer, p. 339-340, 1999.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. **Antibacterial and antifungal essential oils properties.** Current Medicinal Chemistry, v.10, p.813-829, 2003.

KOTIRANTA, A. *et al.* **Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections.** Microbes Infect. 2000. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10742691> Acesso em 04 de mar 2018.

KUMAR, S.N. *et al.* **Synergistic activity and interactions of stilbenes and combinations of antibiotics against bacteria *in vitro*.** World Journal of Microbiology and Biotechnology, v. 28, p. 3143-3150, 2012.

LEAL, P. M. **Ação antimicrobiana de compostos majoritários presentes em óleos essenciais sobre bactérias causadoras de infecções hospitalares.** 2013.

LOGUERCIO, A. P. *et al.* **Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells).** Ciência Rural, v. 35, n. 2, 2005. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782005000200019 Acesso em 04 de mar 2018.

LOPES, J. M. D. C. **Implantação de um horto didático de plantas bioativas no município de Tupanciretã.** 2010.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil.** 4. Ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, v. 1, 2002.

LORENZI, H.; MATOS F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** São Paulo: Instituto Plantarum; 2002.

MACHADO, B. F. M. T. *et al.* **Essential Oils: General and Uses in Natural Therapies.** Cadernos Acadêmicos, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MANAPPALLIL, R. G. ***Staphylococcus schleiferi* coinfection in dengue fever.** Asian Journal of Medical Sciences, v. 8, n. 4, p. 62-63, 2017.

MARONGIU, B. *et al.* **Chemical composition of the oil and supercritical CO₂ extract of *Schinus molle* L..** Flavour and Fragrance Journal, 19:554-558, 2004.

MARTINS E. R. *et al.* **Plantas medicinais.** Viçosa: Ed. UFV; 2000.

MAZZA, M. C. M. *et al.* **Potencial de aproveitamento medicinal de espécies do sub-bosque dos bracingais da região de Curitiba, PR.** Embrapa Florestas-Documents (INFOTECA-E), 2000.

MELLITZ, G. M. **A influência dos métodos de extração na quantificação de fenóis totais na casca *Schinus molle* e *Schinus terebinthifolius*.** Universidade regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. 2017. Disponível em: <http://bibliodigital.unijui.edu.br:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/4498/Gabriela%20Martins%20Mellitz.pdf?sequence=1> Acesso em 24 de fev 2018.

MITCHELL, G. *et al.* **Tomatidine acts in synergy with aminoglycoside antibiotics against multiresistant *Staphylococcus aureus* and prevents the expression of the virulence gene.** The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 67, p. 559- 568, 2012.

MONTANHA, E. A. **Efeitos da dimerização e modificações na porção N-terminal do peptídeo antimicrobiano Aureína 1.2 em sua interação com filmes de Langmuir e atividade biológica.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2017.

NAPOLITANO, D.R. *et al.* **Downmodulation of nitric oxide production in murine macrophages treated with crude plant extracts from the Brazilian Cerrado.** Journal of Ethnopharmacology, v. 99, n. 1, p. 37-41, 2005.

NOVAES. T.S. *et al.* **Atividade Antimicrobiana de alguns extratos de vegetais de semiárido brasileiro.** Revista Brasileira de Farmacognosia, São Paulo, v. 13, supl. 2, p. 5-7, 2003.

OLIVEIRA, R. **Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica.** Revista Brasileira Farmacogn 16.1. 77-82. 2006.

O'NEILL, J. **Tackling a global health: crisis initial steps**. Review on Antimicrobial Resistance. 2015. Disponível em: <https://amr-review.org/sites/default/files/Report-52.15.pdf> Acesso em 16 de fev 2018.

ORWA, C. *et al.* **Agroforestry Database: a tree reference and selection guide, version 4.0** (<http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>) 2009.

PAIVA E. P. *et al.* **Bacillus cereus e suas toxinas em alimentos**. Higiene Alimentar. v. 23. 2009. Disponível em: http://bvs.panalimentos.org/local/File/Rev_HigAlim_v23_n170_171_BACILLUS_CEREUS_TOXINASemALIMENTOS.pdf Acesso em 23 de fev 2018.

PALOMBO, E.A. **Extracts of traditional medicinal plants and natural products with activity against oral bacteria: potential application in the prevention and treatment of oral diseases**. Evidence Based Complementary and Alternative Medicine, v. 2011, p. 1- 15, 2011.

PELL, S.K. *et al.* **Anacardiaceae**. In K. Kubitzki (ed.) The families and genera of vascular plants. X. Flowering plants. Eudicots. Sapindales, Cucurbitales, Myrtales. Springer, Berlin, p. 7-50. 2011.

PIVA M. G. **O Caminho Das Plantas Mediciniais: Estudo Etnobotânico**. Rio De Janeiro: Mondriam 2002.

RANILLA, L. G. **Phenolic compounds, antioxidant activity and inhibitory potential in vitro against key enzymes relevant to hyperglycemia and hypertension of medicinal plants, herbs and spices commonly used in Latin America**. Bioresource Technology, V. 101, N. 12, P. 4676- 4689, 2010.

REZENDE, H. A. D. *et al.* **A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural**. Revista da escola de enfermagem da USP, 2002.

ROZATTO, M. R. **Determinação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos, frações e compostos isolados de Arrabidaea brachypoda**. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. 2012. Disponível em: <http://www2.fcfar.unesp.br/Home/Pos-graduacao/CienciasFarmaceuticas/MARIANA%20RODRIGUES%20ROZATTO.pdf> Acesso em 4 de fev 2018.

SALAZAR-ARANDA, R. *et al.* **Antimicrobial and antioxidant activities of plants in Northeast Mexico**. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 2011, p. 1-6, 2009.

SANTOS A. C. A. *et al.* **Caracterização química de populações de Schinus molle L. do Rio Grande do Sul**, Revista Brasileira de Biociências 5, pg–1014. 2008.

SANTOS, A. C. A. *et al.* **Efeito fungicida dos óleos essenciais de Schinus molle L. e Schinus terebinthifolius Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 20, n. 2, 2010. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2010000200003&script=sci_arttext&tlng=pt Acesso em 11 de fev 2018.

SILVA, O. *et al.* **Anti-Helicobacter pylori activity of Terminalia macroptera root.** Fitoterapia, v. 83, n. 5, p. 872-876, 2012.

SILVA-LUZ, C. L.; PIRANI, J.R. **Anacardiaceae.** R.C. Forzza et al. (org.) Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, v. 1, p. 599-602. 2010.

SILVA, C. G. R. *et al.* **Fitoterapia como terapêutica alternativa e promoção da saúde.** Informe-se em promoção da saúde [online]. 2007 [acesso em: 23 jul 2013]; 3(2):15-17. Disponível em: <http://www.uff.br/promocaodasaude/fit.pdf> Acesso em 3 de fev 2018.

TERRAZAS, T. **Anatomía de la madera de Anacardiaceae con énfasis en los géneros americanos.** Boletín de la Sociedad Botánica de México 64:103-109. 1999.

TOLEDO, A. C. O. *et al.* **Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica.** Revista Lecta, v. 21, n. 1/2, p. 7-13, 2003.

TOMAZZONI M.I. *et al.* **Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica.** Texto contexto - enferm. [periódico na internet]. [acesso em: 2013 Jul 23]; 15(1):115-21. 2006. Disponível em <http://www.index-f.com/textocontexto/2006pdf/2006-115.pdf> Acesso em 4 de fev 2018.

TORQUATTO, J. **Fitoterapia: vantagens, riscos e ações dos fitoterápicos.** 1 ed. São Paulo, 2013.

TORRES, K. A. M. *et al.* **Activity of the aqueous extract of Schinus terebinthifolius Raddi on strains of the genus Candida.** Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, v. 38, n. 12, p. 593-599, 2016.

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. **Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 42, n. 2, abr./jun., 2006.

UTAD JARDIM BOTÂNICO. *Schinus molle L.* 2018. Disponível em: https://jb.utad.pt/especie/Schinus_molle Acesso em 06 de fev 2018.

VIEIRA, S.C.H. *et al.* **Levantamento de fitoterápicos manipulados em farmácias magistrais de Dourados-MS.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 20, n. 1, p. 28-34, 2010.

VIEIRA, F.F.; AGOSTINI, J.S. **Prevalence and profile of Staphylococcus aureus infections caused by isolated in a public Hospital of Dourados-MS.** In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, 8. *Anais...* Ribeirão Preto: CIFARP, 2011.

ZACARÃO, P. C.; PILETTI, R. **Estudo da propriedade antimicrobiana dos óleos essenciais de alho (*Allium Sativum*), pimenta do reino (*Piper Nigrum*) e pimenta rosa (*Schinus Molle*) para aplicação em cortes de frangos temperados.** Universidade do Extremo Sul Catarinense. 2013. Disponível em:

<http://repositorio.unesc.net/bitstream/1/1808/1/Paula%20Choseck%20Zacarão.pdf> Acesso em 12 de fev 2018.

WAGNER, H.; WISENAUER, M. **Fitoterapia – fitofármacos, farmacologia e aplicações clínicas**. 2 ed. São Paulo: Pharmabooks, 2006.

WEBSTER, D. *et al.* **Antifungal activity of extracts of medicinal plant; preliminary screening studies**. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 115, p. 140–146, 2008.

WITT, R. R. **Competências da enfermeira na atenção básica: contribuição à construção das funções essenciais de saúde pública**. 2005.