



# Extrato aquoso de *Allium sativum* potencializa a ação dos antibióticos vancomicina, gentamicina e tetraciclina frente *Staphylococcus aureus*

Graziela Domingues Almeida<sup>1\*</sup>; Ednalva Pena Godoi<sup>2</sup>; Elizaria Cardoso Santos<sup>1</sup>; Leonardo Ramos Paes de Lima<sup>2</sup>; Maria Emilia de Oliveira<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa

<sup>2</sup> Centro Universitário do Leste de Minas Gerais

<sup>3</sup> Instituto Metropolitano de Ensino Superior

## RESUMO

O presente estudo objetivou analisar a influência da atividade do extrato aquoso de *Allium sativum* na CIM frente *S. aureus*, *in vitro*, e seu efeito sinérgico com vancomicina, gentamicina e tetraciclina. Os testes de sinergismo foram realizados através do método de Kirby-Bauer. A associação do extrato com cada antibiótico de forma isolada foi efetiva em inibir o crescimento da cepa *S. aureus*. A maior evidência do sinergismo foi observada na combinação do extrato com vancomicina. Os resultados dos testes de sinergismo foram submetidos ao teste *t* de Wilcoxon ( $p < 0,01$ ). Considerando-se os resultados obtidos no presente estudo, da associação de antibioticoterapia com o extrato de alho, pode-se concluir que o mesmo pode representar uma ferramenta terapêutica promissora para tratamento de doenças bacterianas com possibilidade de diminuição do grau de toxicidade e resistência bacteriana a antibióticos.

**Palavras-chave:** Alho. Antibioticoterapia. Sinergismo entre antibióticos e plantas.

## INTRODUÇÃO

O controle de infecções causadas por patógenos multirresistentes representa uma problemática para os serviços de saúde pública no mundo todo (Klevens et al., 2007; Noriega et al., 2010; Bode et al., 2010). É estabelecido que cepas bacterianas encontradas na microbiota natural do homem são capazes de apresentar múltiplos mecanismos de virulência e versatilidade patogênica em caráter oportunista (Soriano et al., 2008; Ratti & Sousa, 2009; Yang et al., 2009). Esse fato, somado ao uso inapropriado e irracional da antibioticoterapia, implica diretamente em processos

de multirresistência bacteriana, o que ocasiona disfunções fisiológicas e consequentemente o comprometimento do processo saúde-doença dos indivíduos (Monroe & Polk, 2000). Um exemplo consolidado de cepa virulenta e multirresistente com importante implicação clínica, especialmente em ambiente hospitalar é a bactéria gram-positiva, *Staphylococcus aureus* (Boucher & Corey, 2008; Köck et al., 2010).

Abordagens científicas têm levantado à importância de associações terapêuticas para tratamento de diversos tipos de doenças, dentre essas, infecções bacterianas, visando maior eficácia e baixa toxicidade. Nesse contexto tem sido relatado, na literatura, que o uso de diferentes compostos naturais associados ou não a antibióticos sintéticos podem ser eficazes no tratamento de processos infecciosos, causados por agentes patogênicos de diversas espécies (Hemaiswarya et al., 2008; Chou et al., 2010).

O uso de produtos naturais para fins medicinais representa uma prática milenar para prevenção, diagnóstico e tratamento da saúde física e mental da população (Fabricant et al., 2001; Azaizeh et al., 2008; Silva & Fernandes, 2010). Considerando as propriedades biologicamente ativas desses produtos, aproximadamente 80% da população mundial recorrem a essa prática como alternativa e ou associações terapêuticas em diferentes abordagens patológicas (WHO, 2000). Uma das espécies da flora medicinal, amplamente estudada devido às suas atividades antibacteriana, antifúngica, antiviral e antiprotosoária é o *Allium sativum* (alho) (Kyung, 2012). Estudos prévios têm evidenciado ainda a implicação do alho como *modulador da atividade do sistema cardiovascular, imunológico, além de propriedades antioxidantes e antitumorais* (Rahman & Lowe, 2006; Queiroz et al., 2009; Santiago et al., 2009, Shrivastava & Ganesh, 2010).

Análises dos constituintes fitoquímicos do alho revelaram a presença de proteínas, ácidos graxos, carboidratos, flavonoides, vitaminas e saponinas esteroidais com considerável ação terapêutica (Simões et al., 2007; An et al., 2009). Além disso, análises bioquímicas do óleo essencial de alho evidenciaram a presença de derivados do enxofre, como ajoeno, aliina e alicina, componentes com implicações em diferentes atividades biológicas. Dentre essas, destaca-se seu amplo espectro antibacteriano frente

*Autor correspondente:* Graziela Domingues de Almeida Lima, Departamento de Biologia Geral - Laboratório de Biologia Estrutural - Universidade Federal de Viçosa - Av. Peter Henry Rolfs s/n - Campus Universitário - CEP.36570000-Viçosa - MG - Brasil - e-mail:graziela.gdal@gmail.com, telefone: 31-3899-2515.

a uma variedade de cepas gram-positivas e gram-negativas patogênicas (Lorenzi & Matos, 2002; Singh & Singh, 2008; Abubakar, 2009). Abubakar (2009) evidenciou a eficácia do efeito sinérgico do extrato de alho e o antibiótico ciprofloxacina na inibição do crescimento de cepas bacterianas altamente patogênicas e multirresistentes, como *E. Coli* e *H.pylori*.

Dessa forma, considerando as propriedades antibacterianas do *Allium sativum* e a relevância da associação de antibióticoterapia frente à diminuição da resistência bacteriana, o presente estudo tem como propósito analisar a influência da atividade do extrato aquoso de alho frente *S.aureus*, patógeno oportunista encontrado em uma variedade de nichos, e seu efeito sinérgico com vancomicina (antibiótico de escolha para tratamento de doença estafilocócica), gentamicina e tetraciclina (antibióticos com amplo espectro de ação antibacteriana) que também podem ser usados para combater infecção estafilocócica e, consequentemente, contribuir para aumentar a resistência bacteriana.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção do material vegetal e preparo do extrato

Uma quantidade de 500 gramas de bulbilhos de alho foi adquirida em uma cidade do leste de Minas Gerais. Para obtenção do extrato aquoso, os bulbilhos foram previamente lavados com água destilada e triturados em um multiprocessador. Em seguida, o extrato foi submetido a um processo de filtragem, primeiramente em um funil de vidro contendo algodão estéril em seu interior seguido de filtragem em membrana de nitrocelulose (Millipore, 0,22 µm) estéril, em capela de fluxo laminar. O extrato estéril foi acondicionado em tubos de centrifuga e mantido a 4°C até a realização dos testes de desafio bacteriológico. Para garantir o controle permanente da assepsia do extrato obtido, o teste de semeadura em Agar Nutriente (Nutrient Agar, OXOID) foi realizado previamente ao procedimento experimental para confirmar o grau de esterilidade do extrato a ser utilizado.

### Preparo do micro-organismo e inóculo

Para realização dos testes experimentais foi utilizada a bactéria *S. aureus* ATCC 25923 (American Type Culture Collection) obtida do Laborclin Produtos para Laboratórios Ltda. A cepa foi suspensa em 3mL de caseína soja para reativação, de acordo com instruções do fabricante (Laborclin, 2008). Após esse procedimento, a bactéria foi semeada em placas de petri (90x15mm) contendo ágar, caseína e soja e colocadas em estufa bacteriológica a 37° por 24 horas. Após esse período, as colônias crescidas foram transferidas, com auxílio de alça de platina, para um recipiente contendo solução salina 0,9% preparada de acordo com o padrão 0,5 da escala McFarland, que representa à concentração aproximada de 10<sup>8</sup> Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) (Koneman et al., 2001).

### Obtenção da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e sensibilidade da cepa bacteriana ao extrato

Para determinar a CMI, diluições do extrato aquoso de alho em solução salina 0,9% foram preparadas nas seguintes concentrações (v/v): 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 750 µL/mL. Discos estéreis de 6 mm de diâmetro de papel filtro foram embebidos nas diferentes diluições do extrato. O teste de sensibilidade da cepa bacteriana *S. aureus* foi realizado utilizando o método de Kirby-Bauer de difusão em ágar (Koneman et al., 2001). O ensaio foi realizado em triplicata e os valores médios dos halos de inibição, mensurados com auxílio de um paquímetro, foram considerados para obtenção do resultado. Para cada repetição foi utilizada controle positivo (disco impregnado com gentamicina - 10 µg/mL) e um controle negativo (disco impregnado com salina 0,9%).

### Antibióticos e o teste de associação com o extrato aquoso de alho

Discos de papel impregnados com o antibiótico vancomicina (30 µg/mL), gentamicina (10 µg/mL) e tetraciclina (30 µg/mL) foram adquiridos do Laborclin Ltda. O delineamento experimental para realização dos testes de atividade da associação entre o extrato aquoso de alho e os antibióticos foi realizado de acordo com o esquema descrito na Figura 1.

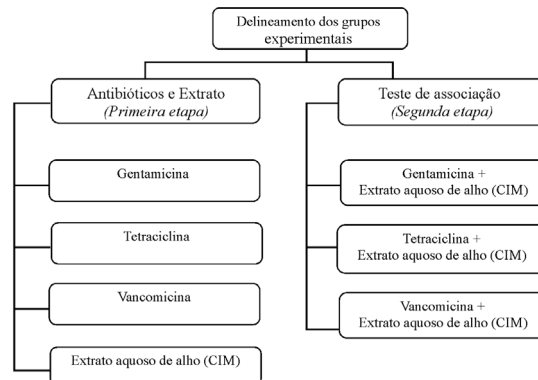


Figura 1. Delineamento dos grupos experimentais.

A associação do extrato de alho e os antibióticos foi realizada através da técnica de difusão em meio sólido, de acordo com o método de Kirby-Bauer em duas etapas distintas. Primeira etapa: os discos com os respectivos antibióticos e discos de papel filtro (6 mm) estéreis embebidos no extrato aquoso de alho na CMI foram colocados em placas de petri (140x15mm) estriadas com a cepa bacteriana e colocados em estufa bacteriológica por 48 horas a 37° C. Nessa etapa, foram utilizadas onze placas contendo ágar Miller-Hinton estriada com a bactéria para cada antibiótico (vancomicina, gentamicina e tetraciclina) e onze placas para o extrato aquoso de alho. Cada placa continha três discos da respectiva substância, mais um disco controle positivo e um controle negativo. Segunda etapa,

os discos impregnados com os antibióticos foram imersos no extrato aquoso de alho na CIM e colocados em placas de petri (140x15mm) estriadas com a cepa bacteriana e colocados em estufa bacteriológica por 48 horas a 37° C. Foi utilizado o mesmo número de repetições descritas na primeira etapa.

### Análise estatística

Para a comparação dos resultados obtidos nos testes de associação de cada antibiótico com o extrato aquoso de alho foi utilizado o teste não paramétrico *t* de Wilcoxon. As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,01$ .

## RESULTADOS

### Atividade antibacteriana do extrato e CMI

A sensibilidade da cepa *S. aureus* frente ao extrato aquoso de alho está representado na Figura 2.

Valores médios dos diâmetros dos halos de inibição do extrato e de suas diferentes diluições frente a *S. aureus* estão representados na Tabela 1. O extrato aquoso de alho e diluições nas concentrações de 500 e 750 µL/mL apresentaram ação antibacteriana efetiva. Baseado nesse achado estabeleceu-se a CIM do extrato aquoso de alho de 500 µL/mL.

Tabela 1. Média e desvio padrão dos diâmetros dos halos de inibição do extrato aquoso de alho e de suas diferentes diluições frente à cepa de *S. aureus*.

Diluições do extrato aquoso de alho (µL/mL)	Média e desvio padrão dos halos de inibição (mm)
5	-
10	-
25	-
50	-
100	-
250	-
500	19,45±0,63
750	21,71±2,02
Sem diluição	23,81±0,91

(-) Ausência de atividade inibitória. N = 3.



Figura 2. Foto representativa dos halos de inibição (1, 2 e 3) formados pela atividade antibacteriana do extrato aquoso de alho sem diluição frente *S. aureus*. (+) Controle positivo: gentamicina (10µg/mL); (-) Controle negativo: solução salina a 0,9%.

### Teste de associação do extrato aquoso de alho com antibióticos

A representação qualitativa dos halos de inibição formados pela associação entre cada antibiótico com o extrato aquoso de alho está apresentada na Figura 3.

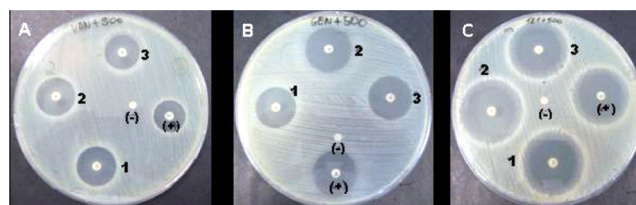


Figura 3. Foto representativa dos halos de inibição (1, 2 e 3) formados da ação sinérgica do extrato aquoso de alho (CIM) e o antibiótico vancomicina (A), gentamicina (B) e tetraciclina (C). (+) Controle positivo; (-) Controle negativo.

A Tabela 2 representa a análise quantitativa das médias e medianas dos valores dos halos de inibição de cada antibiótico de forma isolada e a associação entre cada antibiótico com o extrato aquoso de alho frente *S. aureus*. Houve diferença estatisticamente significativa para todas as associações testadas, comparada ao seu respectivo antibiótico testado de forma isolada.

Tabela 2. Média, desvio padrão e mediana da taxa de sinergismo do extrato aquoso de alho com o antibiótico vancomicina, gentamicina e tetraciclina frente a *S. aureus*.

Antibióticos e Associações	Média dos halos de inibição (mm)	Mediana (mm)
Vancomicina	20,74±0,48	20,64
Vancomicina+ Extrato	26,75±1,25	26,67*
Gentamicina	23,59±1,48	24,00
Gentamicina + Extrato	30,71±1,32	30,62*
Tetraciclina	27,09±1,12	27,02
Tetraciclina+ Extrato	32,70±1,67	32,85*

Extrato aquoso de alho foi usado na CIM (500 µL/mL). N = 33 halos de inibição. \* Significativo  $p < 0,01$  pelo teste *t* de Wilcoxon.

A representação gráfica do efeito sinérgico da associação dos antibióticos com o extrato aquoso de alho na CMI está apresentada na Figura 4. A mediana do diâmetro dos halos de inibição dos antibióticos testados de forma isolada foi significativamente menor comparada às combinações realizadas (Figura 4A, 4B e 4C). A maior evidência do sinergismo ocorreu para vancomicina (Figura 4A), na qual, a adição do extrato aquoso de alho ao antibiótico elevou a mediana do diâmetro dos halos de inibição de 20,64 mm (vancomicina) para 26,67 mm (vancomicina e extrato aquoso de alho), seguidos por um aumento de 24,00 mm (gentamicina) para 30,62 mm (gentamicina e extrato aquoso de alho) (Figura 4B) e 27,02 mm (tetraciclina) para 32,85 mm (tetraciclina e extrato aquoso de alho) (Figura 4C). Os percentuais de aumento foram de 29,22%, 27,58% e 21,58% respectivamente.

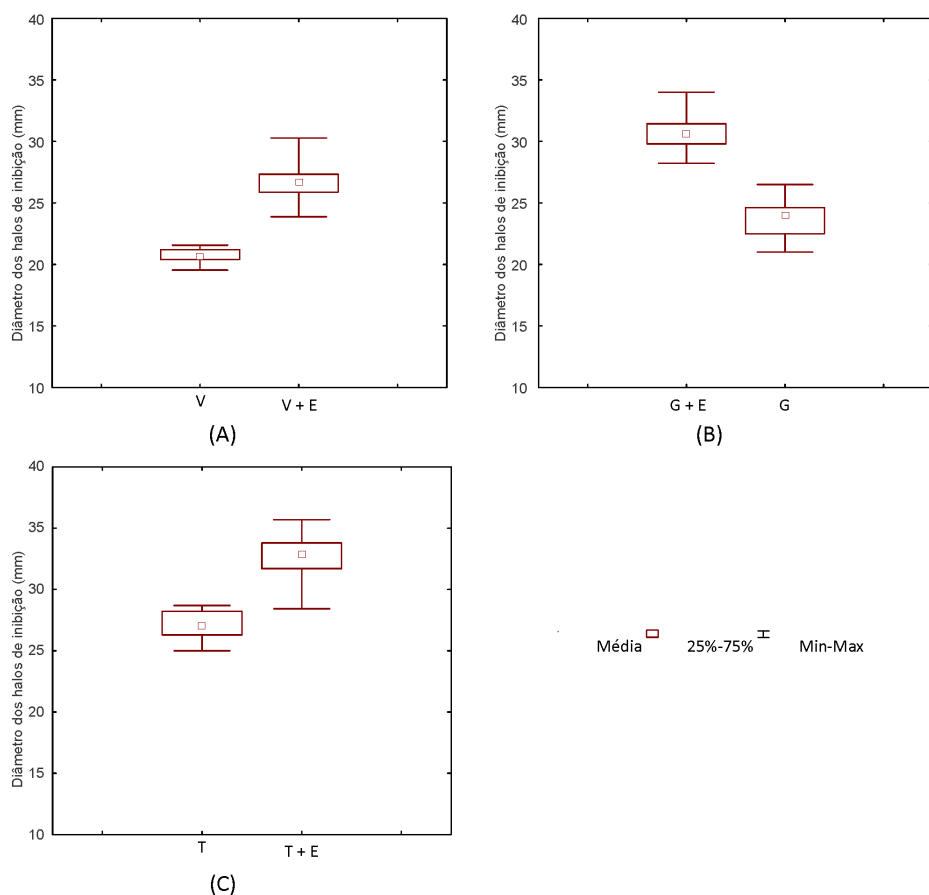


Figura 4. Mediana do diâmetro dos halos de inibição de cada antibiótico de forma isolada e associado ao extrato aquoso de alho. V: vancomicina; G: gentamicina; T: tetraciclina; E: extrato aquoso de alho na CMI. # Estatisticamente significativo para  $p < 0,01$  pelo teste  $t$  de Wilcoxon.

## DISCUSSÃO

O principal achado do presente estudo foi a constatação de que o extrato aquoso de alho na CIM é eficaz em potencializar a ação dos antibióticos testados frente ao crescimento da cepa *S. aureus*, em testes realizados *in vitro*.

A evidência da considerável sensibilidade de *S. aureus* frente ao extrato aquoso de alho foi positiva em nosso estudo. Abubakar (2009), ao avaliar diferentes métodos de obtenção do material vegetal, demonstrou que a capacidade antimicrobiana do extrato aquoso de alho foi mais eficaz, em relação a outros métodos de extração, frente a diferentes cepas bacterianas, especialmente aquelas encontradas em ambiente hospitalar, como *S. aureus*. A mesma efetividade já havia sido relatada por Al-Waili et al. (2007), em seu estudo utilizando o extrato de alho fresco frente a mesma espécie bacteriana.

O sinergismo encontrado entre o extrato aquoso de alho e os antibióticos testados em nosso estudo foi evidenciado pelo aumento dos diâmetros dos halos de inibição frente à cepa bacteriana *S. aureus*. Estudos prévios têm relatado a importância da interação de extratos de plantas em concentrações variadas e diferentes tipos de antibióticos, na inibição do crescimento de

micro-organismos patogênicos e multirresistentes a drogas (Sibanda & Okoh, 2007; Silva & Fernandes, 2010; Ahmed et al., 2010; Ćirkovic et al., 2012; Ushimanu, 2012).

Em um estudo realizado por Iwalokun et al. (2004) foi demonstrado a atividade antibacteriana do extrato aquoso de alho frente a 133 isolados multirresistentes de bactérias gram-positivas e gram-negativas. Além disso, Durairaj et al. (2009) evidenciou potencial antimicrobiano significativo do mesmo extrato frente à nove cepas bacterianas distintas, patogênicas, obtidas de amostras de alimentos e três cepas distintas obtidas em ambiente hospitalar. Esses achados, assim como no presente estudo, mostram a implicação do alho como importante agente antibacteriano especialmente frente à cepa bacteriana gram-positiva *S. aureus*.

Tem sido relatado na literatura que a ação antibacteriana do alho pode ser atribuída a seus diversos constituintes fitoquímicos, os quais, na maioria das vezes tem apresentado relação com processos de inibição de síntese proteica bacteriana, que por sua vez, influencia diretamente na viabilidade patogênica. Considerando essa propriedade, diferentes abordagens terapêuticas têm levantado a importância, não apenas do uso isolado do alho como agente antimicrobiano, mas também possível associação com fármacos que apresentam propriedade



semelhante (Betoni et al., 2006; Eja et al., 2007; Simões et al., 2007).

Em nosso estudo, a associação do extrato de alho com o antibiótico vancomicina mostrou resultado promissor, comparado à associação do extrato à gentamicina e tetraciclina. Betoni et al. (2006), ao investigar a atividade sinérgica do extrato hidroalcoólico de alho e treze tipos de antibióticos frente *S. aureus*, observou atividade sinérgica especialmente em relação a gentamicina e tetraciclina e atividade negativa em relação ao antibiótico vancomicina. Nossos resultados corroboram com os obtidos por Betoni et al. (2006) em relação à gentamicina e tetraciclina. Essa similaridade pode ser justificada ao se considerar a capacidade mútua de inibição da síntese proteica bacteriana de ambos agentes testados. Um fato curioso abordado nesse mesmo estudo foi a relação negativa da atividade sinérgica do extrato de alho com o antibiótico vancomicina, medicamento de escolha para tratamento de infecções causadas por *S. aureus*. Essa mesma relação foi positiva em nosso estudo. A divergência de resposta pode ser justificada pela metodologia utilizada para obtenção o extrato. De acordo com Abubakar (2009), o tipo de solvente usado na extração da amostra pode influenciar diretamente na capacidade antibacteriana.

Recentes abordagens fitoquímicas têm relatado a implicação do uso sinérgico e possível ação antagonista de extratos de plantas medicinais com antibioticoterapia. Ushimanu et al. (2012) testou essa atividade associando o extrato cru de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) com o antibiótico polymyxin e o extrato de *Allium sativum* com o antibiótico gentamicina, frente à cepas bacterianas patogênicas. Atividade antibacteriana positiva foi encontrada. Em outra investigação realizada por Ćirkovic et al. (2012), foram utilizadas 36 isolados bacterianos incluindo bactérias gram-positivas e gram-negativas com o propósito de investigar atividade antibacteriana do extrato de alho o qual também se mostrou efetiva.

Em conclusão, os resultados positivos do presente estudo apontam que a associação da antibioticoterapia com extrato aquoso de alho pode ser vista como uma abordagem terapêutica complementar e promissora para tratamento de doenças bacterianas, especialmente em caráter oportunista, podendo contribuir para diminuição da toxicidade e o mecanismo de resistência bacteriana causado pelas drogas.

## ABSTRACT

*Aqueous extract of Allium sativum potentiates action of the antibiotics vancomycin, gentamicin and tetracycline against Staphylococcus aureus*

**The present study aimed to analyze the influence of (*Allium sativum*) aqueous extract activity in the minimum inhibitory concentration of antibiotics against *S. aureus*, *in vitro*, and its synergistic effect with vancomycin, gentamicin, and tetracycline. The synergy tests were performed by Kirby-Bauer method. The association of the extract with each antibiotic in isolation was effective in inhibiting the growth of *S. aureus* strain. The greatest evidence of synergism was observed in the combination of extract with vancomycin. The synergy**

**tests results were submitted to Wilcoxon's *t*-test ( $p < 0.01$ ). Regarding the results obtained in this study, the association of antibiotic therapy with garlic extract can represent a promising therapeutic tool for the treatment of bacterial diseases with possibility of reduction in the toxicity degree and bacterial resistance to antibiotics.**

**Keywords:** Garlic. Antibiotic therapy. Synergism between antibiotics and plants.

## REFERÊNCIA

Abubakar ME. Efficacy of crude extracts of garlic (*Allium sativum* Linn.) against nosocomial *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Plant Res. 2009;3(4):179-85.

Ahmed Z, Khan SS, Khan M, Tanveer A, Lone ZA. Synergistic Effect of *Salvadorapersica* Extracts, Tetracycline and Penicillin Against *Staphylococcus aureus*. Afr J Basic Appl Sci. 2010;2(1-2):25-9.

Al-Waili NS, Saloom KY, Akmal M, Al-Waili TN, Al-Waili NA, Al-Waili H, Ali A, Al-Sahlani K. Effects of Heating, Storage, and Ultraviolet Exposure on Antimicrobial Activity of Garlic Juice. JMed Food. 2007;10(1):208-12.

An M, Shen H, Cao Y, Zhang J, Cai Y, Wang R, Jiang Y. Allicin enhances the oxidative damage effect of amphotericin B against *Candida albicans*. Int J Antimicrob Agents. 2009;33(3):258-63.

Azaizeh H, Saad B, Cooper E, Said, O. Traditional Arabic and Islamic Medicine, a Re-emerging. Evid Based Complement Alternat Med. 2008;7(4):419-24.

Betoni JEC, Mantovani RP, Barbosa LN, Di Stasi LC, Junior AR. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006;101(4):387-90.

Bode LG, Kluytmans JA, Wertheim HF, Bogaers D, Vandembroucke-Grauls CM, Roosendaal R, Troelstra A, Box AT, Voss A, van der Tweel I, van Belkum A, Verbrugh HA, Vos MC. Preventing Surgical-Site Infections in Nasal Carriers of *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med. 2010;362(1):9-17.

Boucher HW, Corey GR. Epidemiology of ethicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. 2008;46(Suppl 5):344-9.

Chou TC. Drug Combination Studies and Their Synergy Quantification Using the Chou-Talalay Method. Cancer Res. 2010;70(2):440-6.

Ćirkovic I, Jovalek M, Jegoroc B. In vitro antibacterial activity of garlic and synergism between garlic and antibacterial drugs. Arch Biol Sci. 2012;64(4):1369-75.

Durairaj S, Srinivasan S, Lakshmanaperumalsamy P. In vitro Antibacterial Activity and Stability of Garlic Extract at Different pH and Temperature. eJBio. 2009;5(1):5-10.

- Eja ME, Asikong BE, Atriba C, Arikpo EG, Anwan EE, Enyi-Idoh KH. A comparative assessment of the antimicrobial effects of Garlic (*Allium sativum*) and antibiotics on diarrheagenic organisms. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2007;38(2):343-8.
- Fabricant DS, Farnsworth RN. The Value of Plants Used in Traditional Medicine for Drug Discovery. *Environ Health Perspect*. 2001;109(Suppl 1):69-75.
- Hemaiswarya S, Kruthiventi AK, Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*. 2008;15(8):639-52.
- Iwalokun BA, Ogunledun A, Ogbolu DO, Bamiro SB, Jimi-Omojola J. In vitro antimicrobial properties of aqueous garlic extract against multidrug-resistant bacteria and candida species from Nigeria. *J Med Food*. 2004;7(3):327-33.
- Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, Harrison LH, Lynfield R, Dumyati G, Townes JM, Craig AS, Zell ER, Fosheim GE, McDougal LK, Carey RB, Fridkin SK. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in The United States. *JAMA*. 2007;298(15):1763-71.
- Köck R, Becker K, Cookson B, van Gemert-Pijnen JE, Harbarth S, Kluytmans J, Mielke M, Peters G, Skov RL, Struelens MJ, Tacconelli E, Navarro Torné A, Witte W, Friedrich AW. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Euro Surveill*. 2010;15(41):1-9.
- Koneman EW et al. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
- Kyung KH. Antimicrobial properties of allium species. *Curr Opin Biotechnol*. 2012;23(2):142-7.
- Laborclin Produtos para Laboratório. Cepas controle LB. LB 170150. Protocolo Rev 02, 10/2008.
- Lorenzi H, Matos FJA. Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora; 2002.
- Monroe S, Polk R. Antimicrobial use and bacterial resistance. *Curr Opin Microbiol*. 2000;3(5):496-501.
- Noriega, R. The changing pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Latin America: implications for clinical practice in the region. *Braz J Infect Dis*. 2010;14(2):87-96.
- Queiroz YS, Ishimoto EY, Bastos DHM, Sampaio GR, Torres EAFS. Garlic (*Allium sativum* L.) and ready-to-eat garlic products: In vitro antioxidant activity. *Food Chem*. 2009;115(1):371-4.
- Rahman K, Lowe GM. Garlic and Cardiovascular Disease: A Critical Review. *J Nutr*. 2006;136(3):736-40.
- Ratti RP, Sousa CP. *Staphylococcus aureus* metilicina resistente (MRSA) e infecções nosocomiais. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 2009;30(2):137-43.
- Santiago MB, Nascimento AM, Couto WCS, Oliveira Neto WN, Lessa FCR, Franquini JVM, Pinto VD, Andrade TU. Efeito da administração do *Allium sativum* sobre as alterações cardiovasculares de ratos Wistar com infarto do miocárdio. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 2009;30(1):75-82.
- Shrivastava S, Ganesh N. Tumor inhibition and Cytotoxicity assay by aqueous extract of onion (*Allium cepa*) & Garlic (*Allium sativum*): an in-vitro analysis. *Phytomedicine*. 2010;2(1):80-4.
- Sibanda T, Okoh AI. The challenges of overcoming antibiotic resistance: Plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. *Afr J Biotechnol*. 2007;6(25):2886-96.
- Silva NCC, Fernandes JA. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis*. 2010;16(3):402-13.
- Simões CMO, Schenkel EP, Gosman G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Editora da UFRGS; 2007.
- Singh VK, Singh DK. Pharmacological Effects of Garlic (*Allium sativum*L.). *ARBS Annu Rev Biomed Sci*. 2008;10:6-26.
- Soriano A, Marco F, Martí'nez JA, Pisos E, Almela M, Dimova VP, Alamo D, Ortega M, Lopez J, Mensa J. Influence of Vancomycin Minimum Inhibitory Concentration on the Treatment of Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clin Infect Dis*. 2008;46(2):193-200.
- Ushimanu PI, Barbosa LM, Fernandes AAH, Di Stasi LC, Junior AF. In vitro antimicrobial activity of medicinal plant extracts against *Escherichia coli* strains from human clinical specimens and interactions with antimicrobial drugs. *Nat Prod Res*. 2012;26(16):1553-7.
- World Health Organization - WHO. WHO General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine. Geneva: WHO; 2000.
- Yang ES, Tan J, Eells S, Rieg G, Tagudar G, Miller LG. Body site colonization in patients with community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other types of *S. aureus* skin infections. *Clin Micro Biol Infect*. 2009;16(5):425-31.

Recebido em 07 de fevereiro de 2013

Aceito para publicação em 22 de abril de 2013