Revista de Ciências
Farmacêuticas
Básica e Aplicada
Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences

Rev Ciênc Farm Básica Apl., 2015;36(1):77-82
ISSN 1808-4532

Avaliação da Atividade Antibacteriana do Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) e do Maracujá Amarelo (*Passiflora edulis* Sims)

Rone Aparecido De Grandis[1]; Heloisa de Fatima Mochetti[2]; Maiza Emilaine Santinon[2]; Sabrina Perina[2]; Flávia Aparecida Resende[1]; Taís Maria Bauab[1]; Leonardo Gorla Nogueira[2*]

[1] Universidade Estadual Paulista, UNESP, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, SP, Brasil.
[2] Centro Universitário de Araraquara, UNIARA, Faculdade de Farmácia, Araraquara, SP, Brasil.

RESUMO

Nas últimas décadas, inúmeros estudos têm sido realizados para conferir às plantas seu real valor na terapia. São muitos os fatores que vem colaborando com o desenvolvimento desta prática de saúde, principalmente econômicos e sociais. A aplicação do conhecimento tradicional, ou popular, acerca do uso curativo de vegetais no desenvolvimento de fitoterápicos mostra-se como uma estratégia bastante consequente e consistente. Neste contexto, torna-se imprescindível a avaliação das atividades biológicas destas plantas, com destaque para àquelas amplamente utilizadas pela população. Assim, o presente estudo avaliou a atividade antibacteriana de tinturas e pós de folhas de *Passiflora edulis* **Sims (maracujá amarelo) e raízes de** *Zingiber officinale* **Roscoe (gengibre), além de infusos e decoctos, respectivamente, obtidos comercialmente, a fim de se avaliar o que é normalmente consumido pela população. Para tanto, as metodologias utilizadas foram as técnicas de difusão em ágar e microdiluição frente aos micro-organismos** *Staphylococcus aureus* **(ATCC 25923),** *Bacillus subtilis* **(ATCC 19659),** *Escherichia coli* **(ATCC 25922),** *Salmonella* **sp (ATCC 19196) e** *Pseudomonas aeruginosa* **(ATCC 27853). Os resultados demonstraram que o gengibre possui efeito antibacteriano principalmente sob as bactérias Gram-positivas, enquanto o maracujá amarelo não demonstrou atividade em nenhum dos testes e concentrações testadas. Deste modo, os resultados obtidos no presente estudo contribuem para o** *screening* **da atividade antibacteriana, na busca por novos medicamentos.**

Palavras-chave: Atividade antibacteriana. Gengibre. Maracujá.

Autor correspondente: Leonardo Gorla Nogueira, Centro Universitário de Araraquara, UNIARA, Rua Voluntários da Pátria, 1309 – Centro, Araraquara, São Paulo, Brasil. Email: leo_gorlanog@bol.com.br

INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana emerge como um problema mundial de saúde pública atraindo a atenção de órgãos governamentais nacionais e internacionais como Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Organização Mundial de Saúde (OMS), Centros de Prevenção e Controle de Doenças (CDC), associações de controladores de infecções hospitalares, além da indústria farmacêutica internacional (Paskovaty *et al*., 2005; Hambraeus, 2006; Becker *et al*., 2006).

Aliado a este problema, o descontentamento com a eficácia e o custo da medicina moderna somada à boa aceitação de compostos de origem natural, tem levado cada vez mais pessoas à adoção da terapia com produtos naturais, como drogas vegetais e fitoterápicos (Robbers *et al*., 1997; Quintans *et al*., 2013).

Zingiber officinale Roscoe (gengibre) foi primeiramente descrito, em 1807, pelo botânico inglês William Roscoe (1753-1813). Está inserido na família *Zingiber*aceae, grupo tropical especialmente abundante na região Indo-Malasia que engloba mais de 1200 espécies de plantas incluídas em 53 gêneros. O gênero *Zingiber* inclui aproximadamente 85 espécies. Diversos estudos elucidam as atividades biológicas do gengibre, dentre as quais se destacam as atividades anti-inflamatória, antiemética e antináusea, antimutagênica, antiúlcera, hipoglicêmica, antibacteriana, entre outras (WHO, 1999; Utpalendu *et al*., 1999).

Outra espécie de interesse é o maracujá pertencente à família *Passiflora*ceae, constituída por quase 200 espécies nativas do Brasil (Hoehne, 1946). A principal espécie de maracujá explorada comercialmente é a *Passiflora edulis* Sims mais conhecida como maracujá azedo ou amarelo (Melettie Brückner, 2001).

Costa e Tupinambá (2005), verificaram que os frutos de maracujá do gênero *Passiflora* apresentavam efeito contra ansiedade, fato este atribuído principalmente aos flavonoides crisina e benzoflavona, apresentando também efeito hipotensor por vasodilatação periférica, atribuído aos

cianoglicosídeos. A crisina apresentou também atividade anticonvulsivante relacionada com os receptores cerebrais benzodiazepínicos.

Visando determinar o potencial antibacteriano para posterior utilização no preparo de formulações farmacêuticas com capacidade de suscetibilizar formas resistentes, neste trabalho foram avaliadas tinturas e pós de folhas de *Passiflora edulis* Sims (maracujá amarelo) e raízes de *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre), além de infusos e decoctos, respectivamente, empregando as técnicas de difusão em ágar e microdiluição, a fim de agregar novas ações terapêuticas para essas espécies.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e preparo das amostras

As amostras de folhas secas de maracujá e raízes de gengibre utilizadas para preparação dos pós e infusos/ decoctos, além das tinturas preparadas dessas partes das plantas, foram fornecidas pela Farmácia de Manipulação Reativa, localizada na cidade de Araraquara - SP.

As folhas secas de maracujá e raízes de gengibre foram trituradas e peneiradas até obtenção do pó homogêneo. Após a preparação dos pós, estes foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO), obtendo-se a concentração de 2000 µg/ mL. Além disso, como utilizados popularmente, foram feitos infusos de 2 a 3 folhas de maracujá e o processo de decocção de cerca de 5 g da raiz limpa e picada de gengibre em 200 mL de água MilliQ por cerca de 20 minutos.

Amostras bacterianas

Para os ensaios microbiológicos foram utilizadas as amostras bacterianas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 19659), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella* sp (ATCC 19196) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

As amostras bacterianas foram conservadas a -20oC em caldo Müller-Hinton (CMH) acrescido de 50% de glicerol até o uso. Estes estoques foram repicados em CMH e incubados por 24 horas a 37oC.

Padronização da Suspensão Bacteriana

As culturas bacterianas de 24 horas foram transferidas ao PBS (*Phosphate Buffer Saline*) e ajustada a turbidez com a escala 0,5 de McFarland, seguida de leitura espectrofotométrica a 620 nm até obtenção de absorbância entre 0,08 a 0,10 (1,0 x 108 UFC/ mL). Posteriormente a suspensão foi diluída na proporção 1:10 para obter-se a concentração de 1,0 x 10^7 UFC/ mL, que foi, então, utilizado nos ensaios (NCCLS, 2003).

Avaliação da Atividade Antibacteriana

Método de Difusão em Agar

O método de difusão em Agar foi realizado de acordo com Murray (2003). Foram semeados em ágar Müller-Hinton com auxílio de um swab, 100 µL da suspensão bacteriana com 1 x 10^7 UFC/mL. Após isso, discos de papel (Whatman nº1) com 6 mm de diâmetro foram colocados na superfície das placas de Petri contendo o inóculo e embebidos com 25 µL das soluções de pós de maracujá e gengibre, nas concentrações de 1000, 500, 250 e 125 µg/mL. Para avaliação das tinturas e infusos/ decoctos foram feitas diluições em água MilliQ e álcool 70%, respectivamente, a fim de se avaliar 100%, 50%, 25% e 12,5% das soluções-mãe. Além disso, foi utilizado como controle positivo o antibiótico cloridrato de ciprofloxacino à concentração final de 35 µg/ mL e 25 µL de DMSO, álcool 70% e água MilliQ como controles negativos para os pós, tinturas e infusos/ decoctos, respectivamente. As placas foram incubadas por duas horas em refrigerador para garantir a difusão das amostras vegetais e na sequência foram incubados em aerobiose em estufa a 37ºC durante 24 horas. Após incubação foram feitas as leituras dos halos de inibição de crescimento formados ao redor do disco, medidos em milímetros.

Método de microdiluição com determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A avaliação da atividade antibacteriana e determinação das Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) foram realizadas de acordo com a metodologia de microdiluição descrita segundo a norma M7-A6 da *Nacional Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003).

Os poços das microplacas (96 poços) foram preenchidos com 80 µL de CMH e, em seguida, o primeiro poço foi acrescido de 100 µL das soluções de pós, tinturas e infusos/ decoctos para realização da diluição seriada. Subsequentemente, foram distribuídos 20 µL das suspensões dos micro-organismos em cada poço, exceto no branco - apenas CMH e no controle das amostras avaliadas.

Além das amostras-teste, foram realizados controle positivo (cloridrato de ciprofloxacino), controle de esterilidade do meio, controle de crescimento bacteriano, controle de cor e esterilidade da amostra e controle negativo/ solvente.

As microplacas foram incubadas à 37oC por 24 horas e após esse período foi realizada a leitura visual do crescimento bacteriano e adição de 50 µL de solução de resazurina (0,1 µg/ mL). As placas foram incubadas em temperatura ambiente por duas horas ou até que ocorresse mudança de coloração. A manutenção da cor azul nos orifícios foi interpretada como ausência de crescimento bacteriano e o desenvolvimento de cor rosa, como ocorrência de crescimento bacteriano. A CIM foi definida como a menor concentração da amostra-teste capaz de inibir o crescimento microbiano (Collins & Franzblau, 1997; Palomino *et al*., 2002; Montejano, 2005). Os experimentos foram realizados em triplicata, sendo que em cada microplaca foram testados duas amostras-teste em triplicata.

RESULTADOS

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, foi possível observar que a tintura de gengibre (Tabela 1) foi mais ativa que a tintura de maracujá, nas diluições avaliadas frente aos diferentes micro-organismos, apresentando halos de inibição de 8 mm para *B. subtilis*, *E. coli* e *S. aureus* e 10 mm para *Salmonella* sp. Além disso, as cepas Gram-positivas apresentaram-se sensíveis à tintura de gengibre no intervalo de concentração de 100 a 3,12 %, determinada como sendo a CIM pelo método de microdiluição. Dentre as amostras estudadas, apenas a tintura de gengibre apresentou atividade pelo método de microdiluição (Tabela 1).

Tabela 1: Atividade antibacteriana da tintura de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) expressa pelos halos de inibição (mm) e concentração inibitória mínima (CIM%)

		Halo de inibição					CIM (%)
		Tintura de Gengibre					
Micro – organismos	**C+**	**C-**	**100%**	**50%**	**25%**	**12,5%**	
B. subtilis	36	-	8	8	8	8	3,12
E. coli	46	-	8	8	8	8	-
P. aeruginosa	30	-	-	-	-	-	-
Salmonella sp	40	-	10	10	10	10	-
S. aureus	30	-	8	8	8	8	3,12

- (não houve formação de halo de inibição ao redor do disco)

Halos de inibição de crescimento medidos em milímetros (mm)

C+ = cloridrato de ciprofloxacino (35 µg/ mL), C- = álcool 70% (25 µL)

Observou-se também que os pós de ambas as espécies, tintura e infuso de folhas de maracujá e decoctos de raízes de gengibre não apresentaram atividade antibacteriana e os solventes não interferiram na avaliação dessa atividade nas condições utilizadas.

DISCUSSÃO

A busca por alternativas terapêuticas para diferentes patologias faz da pesquisa de produtos naturais um campo fértil em opções de moléculas com diferentes atividades biológicas. As plantas apresentam em seus metabólitos secundários uma grande fonte de possíveis fármacos devido à diversidade de moléculas com as mais variadas estruturas e propriedades químicas. Desta forma, tais pesquisas podem contribuir significativamente no desenvolvimento da área da saúde em nível mundial, encontrando substâncias mais eficazes e menos tóxicas na corrida contra a resistência bacteriana e o surgimento de micro-organismos patogênicos (Michelin *et al*., 2005; Leitão *et al*., 2006; Lima *et al*., 2006; Barbosa-Filho *et al*., 2007; Saúde-Guimarães & Faria, 2007).

Nesse contexto, torna-se necessária a avaliação da atividade antibacteriana de plantas tradicionalmente utilizadas pela população, a fim de se encontrar novas aplicações terapêuticas, além de buscar elucidar suas possíveis propriedades antibióticas.

No presente estudo, a atividade antibacteriana de tinturas e pós de folhas de *Passiflora edulis* Sims (maracujá amarelo) e raízes de *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre), além de infusos e decoctos, respectivamente, foi investigada contra cinco espécies bacterianas (Gram-positivas e Gram-negativas) pelas técnicas de difusão em ágar e microdiluição.

Existem vários métodos para avaliar a atividade antibacteriana de extratos vegetais. Dentre os mais utilizados estão o método de difusão em ágar e o método de microdiluição. As variações referentes à determinação da CIM de extratos de plantas podem ser atribuídas a vários fatores. Dentre eles podemos citar a técnica aplicada, o micro-organismo e a cepa utilizada no teste, a origem da planta, a época da coleta, o preparo dos extratos (plantas frescas ou secas) e a quantidade de extrato testada. Assim, fica difícil padronizar metodologias para expressar os resultados de testes antibacterianos de produtos naturais (Fennel *et al*., 2004).

Os aspectos vantajosos do método de microdiluição é a possibilidade de se utilizar mais de uma substância-teste, bem como diferentes micro-organismos em um mesmo ensaio. Possibilita ainda demonstrar qual a mínima concentração da substância a ser testada é necessária para inibir o crescimento bacteriano, além de apresentar boa reprodutibilidade (Ostrosky *et al*., 2008; Cowan, 1999; Palomino *et al*., 2002; Eloff, 2000; Langfield, 2004; Alves, 2006).

Segundo Ostrosky *et al*. (2008), a atividade antibacteriana do extrato de *Combretum molle* em *S. aureus* foi 30 vezes mais sensível no método de microdiluição comparado com o método de difusão em agar, correlacionando com os dados obtidos no presente estudo para a tintura de gengibre frente as linhagens de *B. subtilis* e *S. aureus* (Tabela 1). Esses resultados estão de acordo com Ruff *et al*. (2006) que relataram que o gengibre possui efeito bactericida e bacteriostático contra bactérias Gram-positivas. A sensibilidade de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas pode ser devido à diferença acentuada nas suas membranas e nas estruturas associadas à parede celular (Miceli *et al*., 2011).

Malu *et al*. (2009) avaliaram a atividade antibacteriana de extratos obtidos de gengibre usando diferentes solventes como n-hexano, acetato de etila, etanol e água frente a linhagens de *Colliform bacillus*, *S. epidermidis* e *S. viridans*. Dentre os diferentes extratos, apenas o aquoso não foi capaz de inibir o crescimento bacteriano.

No presente estudo, a atividade antibacteriana do gengibre também variou de acordo com a amostra utilizada. O pó e o produto da decocção das raízes do gengibre não apresentaram atividade contra as bactérias testadas. Sendo assim, esses resultados estão seguramente

relacionados com a sua composição química, uma vez que apenas tintura apresentou atividade. Provavelmente, o solvente utilizado (álcool 70%) para preparação da tintura de gengibre foi eficiente para extrair os compostos bioativos. De acordo com Jolad *et al*. (2004), a atividade antimicrobiana do extrato alcoólico de gengibre pode ser devido aos compostos fenólicos encontrados nas suas frações.

Outros estudos mostraram que o gengibre possui um importante efeito antimicrobiano contra uma série de fitopatógenos. Konning *et al*. (2004) demonstraram que o extrato metanólico (3% p/v) obtido a partir do rizoma do gengibre, apresentou inibição do crescimento de *S. aureus*, *B. subtilis* e *E. coli*, com halos de inibição de 9,0; 8,9 e 10,9 mm, respectivamente. Kane *et al*. (2002) mostraram que o extrato vegetal aquoso de gengibre, reduziu 100% de crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*. Tylkowska e Dorna (2001) também observaram que esse extrato inibiu o crescimento micelial de *Alternaria brassicae*, *A. brassicicola*, *Botrytis allii* e *Stemphlium botryosum*.

Com relação ao maracujá também avaliado neste estudo, a infusão, a tintura e as cápsulas contendo o pó das folhas deste vegetal são utilizadas popularmente por possuírem ação carminativa. No entanto, podem também apresentar outras propriedades biológicas e farmacológicas. Entretanto, neste trabalho, as diferentes amostras não foram ativas nas condições utilizadas.

Meléndez e Capriles (2006) usaram extratos de folhas de diversas plantas e verificaram atividade inibitória frente a quatorze espécies bacterianas, entre elas *S. aureus* e *E. coli*. Das espécies de plantas avaliadas, o extrato de *Passiflora edulis* Sims não demonstrou efeito inibitório.

Mohanasundari *et al*. (2007) mostraram que a polpa de maracujá foi capaz de inibir o crescimento de bactérias Gram negativas. No entanto, essa atividade foi atribuída à presença de uma substância chamada passicol.

Diante dos resultados obtidos, esse estudo contribui para o *screening* de atividade antibacteriana, com destaque para a tintura de gengibre que apresentou atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas.

O crescente problema da resistência aos antibióticos exige a busca por novos agentes antibacterianos, demonstrando a relevância do presente estudo, o qual agregou a descoberta de novas ações terapêuticas a produtos comumente utilizados pela população.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer a FAPESP e CAPES, pelo apoio financeiro e a Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP e UNIARA pelo apoio institucional.

ABSTRACT

Evaluation of Antibacterial Activity of Ginger (Zingiber officinale Roscoe) and Yellow Passion Fruit (Passiflora edulis Sims)

In recent decades, numerous studies have been directed to give the plant its real value in therapy. There are many factors that have been collaborating with the development of this health practice, particularly economic and social rights. The application of traditional knowledge, or popular, about the curative use of plants in the development of herbal medicine shows up as a very consequent and consistent strategy. In this context, it is essential to the evaluation of the biological activities of these plants, especially those widely used by the population. So, the present study evaluated the antibacterial activity of tinctures and powders of leaves of *Passiflora edulis* **Sims (yellow passion fruit) and roots of** *Zingiber officinale* **Roscoe (ginger), as well as infusions and decoctions, respectively, obtained commercially, in order to evaluate which is normally consumed by the population. Therefore, the methodologies used were the agar diffusion and microdilution techniques against the micro-organisms** *Staphylococcus aureus* **(ATCC 25923),** *Bacillus subtilis* **(ATCC 19659),** *Escherichia coli* **(ATCC 25922),** *Salmonella* **sp (ATCC 19196) and** *Pseudomonas aeruginosa* **(ATCC 27853). The results showed that ginger has antibacterial effect, mainly on Gram-positive bacteria, while the passion fruit did not show activity in any tests and concentrations. Thereby, the results obtained in this study contribute to the** *screening* **of antibacterial activity in the search for new antimicrobial agents.**

Keywords : Antibacterial activity. Ginger. Passion fruit.

REFERÊNCIAS

Alves EG. Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana de extratos brutos de Miconia rubiginosa e Miconia fallax. Estudo comparativo de quatro técnicas de "*screening*". 110f. [Dissertação]. Franca: Universidade de Franca; 2006.

Barbosa-Filho JM, Nascimento-Júnior FA, Tomaz ACA, Athayde-Filho PF, Silva MS, Cunha EVL, Souza MFV, Batista LM, Diniz MFFM. Natural products with antileprotic activity. Rev Bras Farmacogn. 2007;17(1):141-8.

Becker K, Hu Y, Biller-Andorno N. Infectious diseases: a global challenge. Int J Med Microbiol. 2006;296 (5):179-85.

Collins LA, Franzblau SG. Microplate alamar blue assay versus BACTEC 460 system for high-throughput *screening* of compounds against Mycobacterium tuberculosis and Mycobcterium avium. Antimicrob Agents Chemother. 1997;41(5):1004-9.

Costa AM, Tupinambá DD. O maracujá e suas propriedades medicinais – estado da arte. In: Faleiro FG, Junqueira NTV,

Braga MF (Eds.). Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados; 2005. p.475-506.

Cowan NM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999; 12(4):564-582.

Eloff JNAA. A proposal on expressing the antibacterial activity of plant extracts - a small first step in applying scientific knowledge to rural primary health care. S Afr J Sci. 2000;116-8.

Fennel CW, Lindsey KL, Sparg SG, Stafford GI, Elgorashi EE, Grace OM, Van Staden J. Review: Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: Pharmacological *screening* and toxicology. J Ethnopharmacol. 2004;94:205-17.

Hambraeus A. Lowbury lecture 2005: infection control from a global perspective. J Hosp Infect. 2006;64(3):217-23.

Hoehne FC. Frutas Indígenas. Instituto de Botânica (frutas, Série D). 1946:62-3.

Jolad SD, Lantz RC, Solyom AM, Chen GJ, Bates RB, Timmermann BN. Fresh organically grown ginger (*Zingiber officinale*): composition and effects on LPS-induced PGE2 production. Phytochem. 2004;65:1937-54.

Kane PV, Kshisargar CR, Jadhav AC, Pawar NB. *In vitro* evaluation of some plant extracts against *Rhizoctonia solani* from chickpea. J Mah Agric Univ. 2002;27:101-2.

Konning GH, Agyare C, Ennison B. Antimicrobial activity of some medicinal plants from Ghana. Fitoterapia. 2004;75:65-7.

Langfield RD, Scarano F J, Heitzman ME, Kondo M, Hmmond GB, Neto CC. Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant Peperomia galioides. J Ethnopharmacol. 2004;94:279-81.

Leitão SG, Castro O, Fonseca EM, Julião LS, Tavares ES, Leo RRT, Vieira RC, Oliveira DR, Leitão GG, Martino V, Sulsen V, Barbosa YAG, Pinheiro DPG, Silva PEA, Teixeira DF, Lourenço MCS. *Screening* of Central and South American plant extracts for antimycobacterial activity by the Alamar Blue test. Rev Bras Farmacogn. 2006;16:6-11.

Lima IO, Oliveira RAG, Lima EO, Farias NMP, Souza EL. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de Candida. Rev Bras Farmacogn. 2006;16:197-201.

Malu SP, Obochi GO, Tawo EN, Nyong BE. Antibacterial Activity and medicinal properties of Ginger (Zinziber officinale). Global J Pure App Sc. 2009;15(3):365-8.

Meléndez PA, Capriles VA. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. Phytomedicine. 2006;13:272-6.

Meletti LMM, Brückner CH. Melhoramento genético. In: Brückner CH, Picanço MC. Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria e Mercado. Porto Alegre, RS: Cinco Continentes; 2001;345-85.

Miceli N, Trovato A, Marino A, Bellinghieri V, Melchini A, Dugo P, Cacciola F, Donato P, Mondello L, GüVenc A, De Pasquale R, Taviano MF. Phenolic composition and biological activities of Juniperus drupacea Labill. berries from Turkey. Food Chem Toxicol. 2011;49(10):2600-8.

Michelin DC, Moreschi PE, Lima AC, Nascimento GGF, Paganelli MO, Chaud MV. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. Rev Bras Farmacogn. 2005; 15:316-20.

Mohanasundari C, Natarajan D, Srinivasan K, Umamaheswari S, Ramachandran A. Antibacterial properties of *Passiflora* foetida L. – a common exotic medicinal plant. Afr J Biotechnol. 2007;6(23):2650-3.

Montejano HA, Gervaldo M, Bertolotti SG. The excited-states quenching of resazurin and resorufin and resorufin by p- benzoquinones in polar solvents. Dyes Pigm. 2005; 64:117-24.

Murray PR. Manual of Clinical Microbiology 8th ed. Washington: ASM Press; 2003.

National Committee For Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobiana por difusão em ágar para bactéria de crescimento aeróbio. Norma aprovada 8ª ed. Brasília, DF: ANVISA, 2003. (NCCLS Document M2-A8, v. 23, No 1, 2003).

Ostrosky EA, Mizumoto MK, Lima MEL, Kaneko TM, Suzana O, Nishikawa SO, Freitas BR. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. Braz J Pharmacogn. 2008; 18(2):301-7.

Palomino JC, Martin A, Camacho M, Guerra H, Swings J. Portaels, F. Resazurinmicrotiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46(8):2720-2.

Paskovaty A, Pflomm JM, Myke N, Seo SK. A multidisciplinary approach to antimicrobial stewardship: evolution into de 21st century. Int J Antimicrob Agents. 2005;25(1):1-10.

Quintans JS, Antoniolli AR, Almeida JR, Santana-Filho VJ, Quintans-Júnior LJ. Natural Products Evaluated in Neuropathic Pain Models - A Systematic Review. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2013;114(6):442-50. doi: 10.1111/bcpt.12178.

Robbers JE, Speedie MK, Tyler VE. Farmacognosia e farmacobiotecnologia. São Paulo: Premier; 1997.

Ruff ML, McClanaban SB, Babel BS. *In vitro* anti-fungal efficacy of four irrigants as a final rinse. J Endod. 2006;34(2)331-3.

Saúde-Guimarães DA, Faria AR. Substâncias da natureza com atividade anti-Trypanosoma cruzi. Rev Bras Farmacogn. 2007;17(3):455-65.

Tylkowska K, Dorna H. Effects of cinnamom, garlic, greater celandine, ginger and chosen fungicides on the growther of pathogenic fungi isolated from onin, cabbage and carrot seeds. Phytopathol Pol. 2001;21:25-34.

Utpalendu J, Chattopadhyay RN, Prasad SB. Preliminary studies on anti- inflammatory activity of *Zingiber officinale* Roscoe, Vitex negundo Linn. and Tinospora cordifolia (Willid) Miers in albino rats. Indian J Pharm. 1999;31(3):232-3.

WHO. World Health Organization. Monographs on selected medicinal plants. 1999; 1:277-87.

Recebido em 4 de novembro de 2013

Aceito em 25 de novembro de 2013