

UNILEÃO

CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

MARIA IULÂNIA DE JESUS

**ANÁLISE DO EFEITO ANTIBACTERIANO E MODULADOR DO EXTRATO  
ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Punica granatum* L. (Romã)**

Juazeiro do Norte – CE  
2018

MARIA IULÂNIA DE JESUS

**ANÁLISE DO EFEITO ANTIBACTERIANO E MODULADOR DO EXTRATO  
ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Punica granatum* L.(Romã)**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

**Orientador:** Prof.<sup>a</sup> Esp. Rakel Olinda Macedo da Silva

Juazeiro do Norte – CE  
2018

MARIA IULÂNIA DE JESUS

**ANÁLISE DO EFEITO ANTIBACTERIANO E MODULADOR DO EXTRATO  
ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Punica granatum* L. (Romã)**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do  
Curso de Graduação em Biomedicina do Centro  
Universitário Leão Sampaio, em cumprimento  
às exigências para a obtenção do grau de  
bacharel em Biomedicina.

**Orientador:** Prof.<sup>a</sup> Esp. Rakel Olinda Macedo  
da Silva

**Data de aprovação:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup> Esp. Rakel Olinda Macedo da Silva

**Orientador**

---

Prof.<sup>a</sup> Ma. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro

**Examinador 1**

---

Prof.<sup>a</sup> Ma. Janaína Esmeraldo Rocha

**Examinador 2**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre me abençoar na jornada acadêmica. Obrigada por me ter dado o dom da vida e sabedoria para trilhar da melhor forma possível meu percurso acadêmico, o senhor sempre esteve em primeiro lugar e vai continuar estando.

O meu obrigada mais sincero e cheio de amor aos meus amados pais, Maria Fernandes e Francisco Januário, por sempre estarem ao meu lado me dando força e apoio para tudo que eu precisasse, obrigada por sentarem e chorar comigo nas horas difíceis, e claro por compartilhar a felicidade de minhas conquistas ao meu lado, espero um dia ser um terço da metade do que vocês são hoje, amo muito vocês.

Aos meus amados irmãos (cunhadas/cunhados) pela força dada, por toda ajuda e confiança que depositam diariamente em mim, vocês são minha base, quando procuro me espelhar em alguém me lembro do quão grande vocês são, e tento então ser pelo menos a sombra do reflexo de vocês.

E claro as minhas tias/tios que sempre estiveram ali comigo, me dando força, procurando me ajudar da melhor maneira. Espero um dia poder retribuir todo afeto e dedicação.

Aos meus amigos e amigas, Thalia Ariane e Maria Gracyelly, por sempre acreditarem no meu potencial. A cada conquista minha existe um pedaço de vocês. Em especial a Maria Juliana por ter me acompanhado desde o início e compartilhar comigo cada dificuldade encontrada no percurso acadêmico. E a Manoela Temoteo por mesmo longe sempre torcer por minhas conquistas e me dar força para que eu pudesse continuar.

Aos meus professores, e a melhor coordenadora, Ana Ruth, por terem feito parte dessa jornada agregando conhecimentos e valores, obrigada por tudo. Agradeço também a minha banca avaliadora por terem aceitado o convite.

E por último a minha orientadora Rakel que aceitou me acolher como sua orientanda no momento em que mais precisei de sua ajuda. Obrigada por sempre se disponibilizar a me ajudar, retirar minhas dúvidas, por ter me agregado conhecimento, e por todas as críticas construtivas, sem dúvidas você foi fundamental para que eu pudesse chegar onde cheguei.

# ANÁLISE DO EFEITO ANTIBACTERIANO E MODULADOR DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Punica granatum* L. (Romã)

Maria Iulãnia de Jesus<sup>1</sup>, Raket Olinda Macedo da Silva<sup>2</sup>

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo analisar o efeito antibacteriano e modulador do extrato etanólico das folhas de *Punica granatum* L. As folhas da planta foram trituradas, e submergidas no solvente etanólico por 72 horas para a obtenção do extrato. Os microrganismos utilizados nos testes foram às linhagens bacterianas padrão de *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, e as linhagens multirresistentes de *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 199. A avaliação da atividade antibacteriana e modulatória foram realizadas pelo método de microdiluição. As drogas utilizadas para a modulação foram os aminoglicosídeos, amicacina e gentamicina. Os fitoconstituintes encontrados na realização da prospecção química do EEPg foram os fenóis, taninos hidrossolúveis, flavonas, flavanóis e xantonas. Na realização da determinação da concentração inibitória mínima (CIM), do EEPg frente as linhagens bacterianas, foi obtido uma CIM igual a 512 ug/mL. Na modulação da resistência o uso de gentamicina associado ao extrato etanólico resultou em um sinergismo, intensificando a ação do antibiótico frente *S. aureus*, enquanto para *E. coli* os resultados foram insignificantes. Diante dos resultados obtidos, observa-se que o extrato etanólico apresenta ação antibacteriana frente às cepas Gram-positivas, podendo potencializar a atividade do antibiótico gentamicina. Sendo assim é de suma importância pesquisas mais aprofundadas nessa temática a fim de evidenciar a eficácia do extrato, e de acordo com os resultados seja possível ter mais alternativas na reversão da resistência bacteriana.

**Palavras-chave:** Aminoglicosídeos. Modulação. Resistência bacteriana.

## ANALYSIS OF THE ANTIBACTERIAL EFFECT AND MODULATOR OF THE ETHANOLIC EXTRACT OF THE LEAVES OF *Punica granatum* L. (POMEGRANATE)

### ABSTRACT

This study aimed to analyze the antibacterial and modulator effect of the ethanolic extract of the Leaves of *Punica granatum* L.. The leaves of the plant were crushed, and submerged in the ethanolic solvent for 72 hours to obtain the extract. The microorganisms used in the tests were the standard bacterial strains of *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, and the multidrug-resistant strains of *Escherichia coli* 27 and *Staphylococcus aureus* 199. The evaluation of the antibacterial and modulatory activity was performed by the Microdilution method. The drugs used for modulation were aminoglycosides, amikacin and gentamicin. The phytoconstituents found in the chemical prospecting of the EEPg were the phenols, water-soluble tannins, flavones, flavanols and Xanthas. In the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of the EEPg in the face of the bacterial strains, a mic equal to 512 ug/ML was obtained. In the modulation of

<sup>1</sup>Discente do curso de Biomedicina, mariaiulania2812@gmail.com, Centro Universitário Dr. Leão Sampaio-UNILEÃO

<sup>2</sup>Docente do curso de Biomedicina, rakelolinda@leaosampaio.edu.br, Centro Universitário Dr. Leão Sampaio-UNILEÃO

resistance the use of gentamicin associated with ethanolic extract resulted in a synergism, intensifying the action of the antibiotic front *S. aureus*, while for *E. coli* the results were insignificant. In view of the results obtained, it is observed that the ethanolic extract presents antibacterial action against Gram-positive strains, and may potentiate the activity of the antibiotic gentamicin. Thus, it is of paramount importance more in-depth research in this theme in order to show the efficacy of the extract, and according to the results it is possible to have more alternatives in the reversal of bacterial resistance.

**Keywords:** Aminoglycosides. Modulation. Bacterial resistance.

## 1 INTRODUÇÃO

A resistência bacteriana é um dos problemas de saúde pública mais relevante, pois essa resistência inviabiliza o tratamento de infecções comuns, devido o comprometimento da ação dos antibióticos (FRACAROLLI; OLIVEIRA; MARZIALE, 2017). Trata-se de um fenômeno natural, que vem sofrendo uma expansão acelerada em virtude da utilização inadequada desses fármacos (LOUREIRO et al., 2016).

O surgimento da resistência de cepas bacterianas como *E. coli* e *S. aureus* a uma ampla distribuição de antibióticos como  $\beta$ -lactâmicos, aminoglicosídeos, macrolídeos, lincosamidas, fluoroquinolonas, cloranfenicol, sulfonamidas, estreptomicina e tetraciclina, é uma causa de preocupação em todo o mundo, e transformou-se em um problema de pandemia devido a opções terapêuticas limitadas disponíveis (SCHINDLER; JACINTO; KAATZ, 2013).

*Escherichia coli* pertence à família Enterobacteriaceae, é uma bactéria Gram-negativa, anaeróbia facultativa, faz parte da microbiota intestinal, de seres humanos e animais de sangue quente, cerca de 10% são patogênicas, podendo causar infecções intestinais e extra-intestinais (SANTOS et al., 2009).

*Staphylococcus aureus* são cocos Gram-positivos e catalase-positivos, sendo encontrados em ambientes de circulação do ser humano. O principal reservatório de *S. aureus* é o homem, essa bactéria coloniza vários sítios anatômicos, como fossas nasais, intestino, pele e garganta, no entanto as narinas possuem o maior índice de colonização (SANTOS et al., 2007).

O vasto uso de plantas medicinais na atualidade pode ser motivado pela situação econômica, dificuldade do acesso aos medicamentos pela população que reside em áreas rurais, ou também pela tendência de utilização de recursos naturais como alternativa aos medicamentos sintéticos (VENDRUSCOLO; MENTZ, 2006).

Estudos sobre a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas, extratos e seus componentes tem ganhado o campo da medicina e terapêutica, devido ao aumento da resistência aos antimicrobianos sintéticos (REICHLING et al., 2009).

A família Lythraceae compreende cerca de 600 espécies distribuídas em 28 gêneros, sendo amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais dos dois hemisférios, com alguns representantes de regiões temperadas. É composta por árvores, arbustos ou ervas, anuais ou perenes, de habitats diversificados, podendo ser áreas brejosas, cerrados, campos áridos e pedregosos, e mais raramente florestas tropicais (ZAGO et al., 2009).

*Punica granatum*, conhecida popularmente como romãzeira faz parte da família Lythraceae, é uma planta de inúmeras propriedades terapêuticas e bastante utilizada na medicina popular, os seus frutos são utilizados no tratamento de infecções de garganta, rouquidão e febre (SHAYGANNIA et al., 2015), o suco é usado contra úlceras na boca e gengiva, dores de ouvido, tratamento de dispesia e disenteria, já suas flores são utilizadas no tratamento de gengivas prevenindo a perda dentaria (WERKMAN et al., 2008).

Sabendo-se que o uso de plantas medicinais na tentativa de solucionar problemas relacionados à saúde é um dos métodos naturais mais utilizados pela população, é assim importante a busca por conhecimentos nessa temática, a fim de obter resultados que venham a evidenciar a eficácia dos extratos obtidos a partir delas, e de acordo com os resultados seja possível obter mais alternativas na reversão da resistência bacteriana. Devido o vasto uso de *Punica granatum* na medicina popular, é de grande importância pesquisas sobre os seus extratos, a fim de identificá-los e testar suas ações.

O presente estudo tem como objetivo analisar o efeito antibacteriano e modulador do extrato etanólico das folhas da *Punica granatum* L. (Romã) frente as cepas padrões e multirresistentes de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO**

Trata-se de um estudo experimental de caráter quantitativo que foi realizado no Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, localizado na cidade de Juazeiro do Norte – CE.

## 2.2 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

As folhas frescas de *Punica granatum* foram coletadas no município de Barbalha Ceará, Brasil e uma exsicata da espécie foi depositada no Herbário Dardano Andrade de Lima, na Universidade Regional do Cariri, Crato-Ceará, com o número de registro 13.668.

## 2.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO

Para obtenção do extrato etanólico, foram trituradas 300 gramas de folhas para aumentar a superfície de contato, e em seguida acondicionadas em um recipiente contendo o solvente etanólico em quantidade suficiente para submergir todo o material vegetal, permanecendo assim por 72 horas (BRASILEIRO et al., 2006). Após esse período, foi realizada a concentração do extrato em um evaporador rotativo a vácuo (modelo Q - 344B - Quimis, Brasil) e banho ultrathermal (modelo Q - 214m2 - Quimis, Brasil), obtendo-se o extrato bruto.

## 2.4 ANÁLISE QUÍMICA DO EXTRATO

Os testes fitoquímicos foram realizados para detectar a presença de metabólitos secundários, sendo utilizada a metodologia descrita por Matos (1997); estes foram baseados na observação visual de uma alteração na cor ou a formação de um precipitado após a adição de reagentes específicos.

## 2.5 ANTIBIÓTICOS E MEIOS DE CULTURA

Os antibióticos gentamicina e amicacina foram obtidos de LaborClin, Brasil. Os meios de cultura Caldo *Brain Heart Infusion* (BHI), *Heart Infusion Agar* (HIA), foram adquiridos de HIMEDIA, Índia e o Dimetilsulfóxido (DMSO) de Merck, Alemanha.

## 2.6 MICRORGANISMOS

Foram utilizadas as linhagens bacterianas padrão de *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, e as linhagens multirresistentes de isolados clínicos

*Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 199, todas cedidas pelo Instituto Oswaldo Cruz. Todas as linhagens foram mantidas em Agar infusão de coração.

## 2.7 PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES TESTE

As soluções utilizadas nos testes foram preparadas com uma concentração de 10 mg/mL do produto dissolvido em dimetil sulfóxido (DMSO) e em seguida diluída com água destilada em temperatura ambiente para obter uma concentração de 1024 ug / mL, reduzindo o DMSO a uma concentração inferior a 10%, para evitar a toxicidade.

## 2.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA POR MICRODILUIÇÃO

Este método foi realizado de acordo com a CLSI (2002) e NCCLS (2000). Pequenos volumes de meio e de soluções foram preparadas a partir do extrato e distribuídos em cavidades de microplacas estéreis. Em cada cavidade foi adicionado 100 µL do meio de cultura contendo amostra de suspensão microbiana diluída na proporção 1:10. Controles positivos (meio + inoculo). As soluções de testes foram preparadas em concentração dobrada (1024 µg/mL) em relação à concentração inicial definida e volumes de 100 µL, posteriormente, foram diluídas seriadamente 1:2 em caldo BHI 10%. As placas foram incubadas por 24 h a  $35 \pm 2$  °C.

Para evidenciar a CIM da solução frente as linhagens bacterianas, foi preparada uma solução indicadora de resazurina sódica (Sigma) em água destilada estéril na concentração de 0,01% (p/v). Após a incubação, 20 µL da solução indicadora foram adicionados em cada cavidade e as placas passaram por um período de incubação de 1 hora em temperatura ambiente. A mudança de coloração azul para rosa devido à redução da resazurina indica o crescimento bacteriano, auxiliando a visualização da CIM, definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano, evidenciado pela cor azul inalterada.

## 2.9 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA POR MICRODILUIÇÃO

Para o teste de modulação foram utilizadas apenas as linhagens multirresistentes. As drogas utilizadas nos testes foram os aminoglicosídeos amicacina e gentamicina em uma

concentração inicial de 1024 µg/mL. A atividade moduladora foi determinada de acordo com os métodos propostos por Coutinho et al.(2009) e Matias et al.(2010).

A CIM dos antibióticos foi determinada sob concentrações sub-inibitórias (CIM/8) do produto. Foram distribuídos 100 µL da solução contendo BHI com o inóculo do microrganismo e o extrato em cada poço. Após isso, 100 µL do antimicrobiano foi adicionado no primeiro poço, em seguida, submetido a uma diluição 1:2 em série, variando as concentrações entre 512 a 0,5 µg /mL. Os ensaios foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas por 24 h a  $35 \pm 2$  °C e a atividade antibacteriana fora evidenciada pelo uso de resazurina sódica.

## 2.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados dos ensaios foram feitos em triplicata e expressos como a média geométrica  $\pm$  desvio padrão. A análise estatística foi aplicada à análise de variância de duas vias seguida por pós-testes de Bonferroni usando GraphPad Prism software 5.0, com  $p < 0,05$ .

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fitoconstituintes encontrados na realização da prospecção química do extrato etanólico das folhas de *Punica granatum* L. foram os fenóis, taninos hidrossolúveis, flavonas, flavanóis e xantonas. No estudo de Teles e Costa (2014), na determinação do perfil químico dos extratos aquosos de *Punica granatum* L. foi encontrado dentre os principais fitoconstituintes os flavonóides, antocianinas, ácido ascórbico, alcalóides, ácidos graxos conjugados e o ácido ursólico, encontrado também no extrato da casca da planta os polifenóis.

Nascimento Júnior et al. (2016), além de Antocianinas (Cianidina 3,5–diglicosídeo) e Flavanóides (quercetina), encontraram na análise química da polpa Ácidos Fenólicos (Ácido Caféico) e Taninos, e nas cascas dos frutos apresentaram Flavonóides, Ácido Elágico e Punicalagina. De acordo com Santos, Pereira e Nóbrega (2014), em pesquisas a cerca dos frutos de *Punica granatum* L. observaram que os mesmos contêm altos níveis de diversos fitoquímicos, como polifenóis, incluindo taninos hidrolisáveis (elagitaninos e galotaninos), taninos condensáveis, antocianinas e flavonóides, assim como foi encontrado no presente estudo.

*Punica granatum* L. é bastante conhecida por suas propriedades medicinais, sendo a presença de compostos como taninos e flavonóides, entre outros, os responsáveis por suas diversas propriedades farmacológicas, incluindo a antibacteriana, onde vários estudos já relatam tal atividade, tanto frente a microrganismos Gram-positivos quanto Gram-negativos (AL-ZOREKI, 2009; HOLETZ et al., 2002; KADI et al., 2011; NEGI, 2012).

Na realização da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do EEPg frente a linhagens bacterianas padrão de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foi obtido uma CIM igual a 512 ug/mL. Teles e Costa (2014), obtiveram no teste de microdiluição em caldo, utilizando cepas padrão de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, resultados característicos de atividade antimicrobiana nas quatro primeiras diluições (50%, 25%, 12,5% e 6,25%) do extrato de *Punica granatum* L. No estudo de Nogueira (2014), utilizando o extrato etanólico de *Punica granatum* L., frente às linhagens bacterianas de *E. coli* e *S. aureus*, ele também evidenciou atividade antibacteriana, com CIM de 512 ug/mL para ambos os microrganismos testados, corroborando assim com o presente estudo.

Segundo Machado (2002), essa atividade antimicrobiana apresentada por *P. granatum* L. ocorre devido à presença de fitoconstituintes como alcalóides e taninos presentes no caule, folhas, raiz e sementes da planta. De acordo com Lima, Freire e Farias (2002), a atividade microbicida de *P. granatum* L. está associada certamente à presença do alto teor de taninos que a planta possui, bem como alcalóides, punicina, e ácido gálico, visto que esses constituintes químicos são relatados na literatura, confirmando-se suas propriedades farmacológicas, como antiinflamatória, antibacteriana, antifúngica e entre outras.

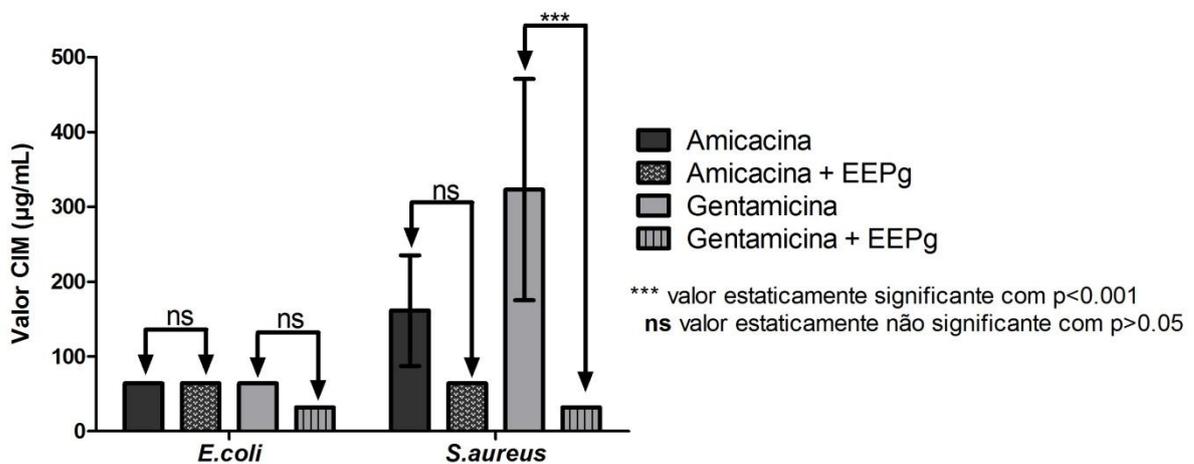
Santos, Pereira e Nóbrega (2014), em pesquisas sobre estudos *in vitro* realizados com extrato bruto ou com taninos isolados identificaram atividades biológicas dos fitoconstituintes do fruto de *P. granatum* L., entre elas, destaca-se a ação bactericida e fungicida do extrato bruto da romã ou de seus compostos isolados.

A dificuldade de estabelecer padrões uniformes em estudos envolvendo plantas medicinais é um problema recorrente, podendo essa dificuldade ser explicada em linhas gerais pela variação nas concentrações de fitocompostos presentes no extrato de *P. granatum* L., variações decorrentes do solo e clima onde a planta é cultivada, horários de coleta da planta, perfis de sensibilidade das cepas usadas nos testes, ou mesmo a metodologia empregada na realização dos testes de atividade antimicrobiana (AL-ZOREKI, 2009).

A interação entre extratos de plantas e antibióticos compõe uma das mais recentes áreas de estudo que visa reverter mecanismos de resistência bacteriana (FADLI et al., 2012).

Nesse contexto foram realizados os testes de modulação, onde nos mesmos foram utilizadas as linhagens multirresistentes de *E. coli* e *S. aureus*, testando a ação do EEPg em associação aos aminoglicosídeos amicacina e gentamicina. A partir destes foram obtidos resultados significativos, onde os mesmos estão representados no gráfico 1, pois o uso de gentamicina associado ao extrato resultou em um sinergismo, ou seja, o extrato intensificou a ação do antibiótico frente a *S. aureus*, no entanto os resultados para *E. coli* foram insignificantes.

**Gráfico 1:** Concentração inibitória mínima dos aminoglicosídeos amicacina e gentamicina em associação ao extrato etanólico das folhas de *Punica granatum* l. frente as cepas bacterianas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*



Braga et al. (2005), avaliaram a interação entre extrato metanólico de *Punica granatum* l. e antibióticos contra 30 isolados clínicos de *S. aureus* sensível à meticilina (MSSA) e *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) e relataram atividade sinérgica, variando de 38% a 73%, com os 5 antibióticos testados, dentre eles a gentamicina.

Avaliando a interação do extrato etanólico de *Punica granatum* l. e os aminoglicosídeos amicacina e gentamicina Nogueira (2014), evidenciou a redução da CIM em ambos os microrganismos, no entanto o mesmo notou que os dois antimicrobianos tiveram suas CIMs diminuídas na cepa de *S. aureus*, enquanto que na cepa de *E. coli* a CIM diminuiu somente em um antibiótico.

Microrganismos Gram-positivos como *S. aureus* são mais susceptíveis a ação de diversos compostos, comparados aos Gram-negativos como *E. coli*, pois estes últimos apresentam uma membrana externa constituída principalmente por lipopolissacarídeos, o que pode impedir a entrada de diferentes compostos para o interior da célula bacteriana (PESSINI et al., 2003). A diminuição significativa da CIM do antibiótico gentamicina em *S. aureus*,

diferentemente de *E. coli*, pode ser explicada também pelo fato de compostos como os flavonóides, presentes no extrato da romã, apresentarem disposição natural de permear membranas, favorecendo a modificação das propriedades celulares principalmente de microrganismos Gram-positivos (TAYLOR, 2013).

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que o extrato etanólico das folhas de *P. granatum* L. apresenta ação antibacteriana frente às cepas bacterianas de *E. coli* e *S. aureus*, apresentando ainda um efeito promissor como modulador da atividade do aminoglicosídeo gentamicina, visto que o extrato ocasionou uma ação sinérgica quando em conjunto com este antibiótico. Sendo assim é de suma importância pesquisas mais aprofundadas nessa temática a fim de evidenciar e testar as ações e a eficácia do seu extrato, e de acordo com os resultados seja possível dispor de mais alternativas na reversão da resistência bacteriana.

#### REFERÊNCIAS

- AL-ZOREKI, N. S. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) Fruit peels. **International Journal of Food Microbiology**, v. 134, n. 1, p. 244-248, 2009.
- BRAGA, L. C. et al. Synergic interaction between pomegranate extract and antibiotics against *Staphylococcus aureus*. **Canadian journal of microbiology**, v. 51, n. 1, p. 541-547, 2005.
- BRASILEIRO, B. G. et al. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. **Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 195-202, 2006.
- CLSI, CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi: Approved Standard: M27-A2.**, ISBN 1562386689. 2002.
- COUTINHO, H.D.M. et al. Herbal therapy associated with antibiotic therapy: potentiation of the antibiotic activity against methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* by *Turnera ulmifolia* L. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 9, n. 1, p. 13, 2009.
- FADLI, M. et al. Antibacterial activity of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* essential oils against nosocomial infection - Bacteria and their synergistic potential with antibiotics. **Phytomedicine**, v. 19, n. 1, p. 464-471, 2012.

- FRACAROLLI, I. F. L.; OLIVEIRA, S. A.; MARZIALE, M. H. P. Colonização bacteriana e resistência antimicrobiana em trabalhadores de saúde: revisão integrativa. **Acta Paul Enfermagem**, v. 30, n. 6, p. 651-657, 2017.
- HOLETZ, F. B. et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.
- KADI, H. et al. Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Punica granatum* L. bark. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 1, n. 10, p. 180-182, 2011.
- LIMA, E. O.; FREIRE, K. R. L.; FARIAS, N. M. P. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *Punica granatum* l. (punicaceae). **Infarma Ciências Farmacêuticas**, v. 14, n. 9/10, p.46-48, 2002.
- LOUREIRO, R. J. et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista port saúde pública**, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016.
- MACHADO, T. B. et al. Antimicrobial Ellagitannin of *Punica granatum* Fruits. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 5, p. 606-610, 2002.
- MATIAS, E.F.F et al. Enhancement of Antibiotic Activity by *Cordia verbenacea* DC. **Latin American Journal Pharmacy**, v. 29, n. 6, p. 1049-1052, 2010.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.
- NASCIMENTO JÚNIOR, B. J. et al. Estudo da ação da romã (*Punica granatum* L.) na cicatrização de úlceras induzidas por queimadura em dorso de língua de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 18, n. 2, p. 423-432, 2016.
- NCCLS, NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard: document M7-A3.**, ISBN 1562382098. 2000.
- NEGI, P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. **International Journal of Food Microbiology**, v. 156, n. 1, p. 7-17, 2012.
- NOGUEIRA, R. D. V. **Potencial modulador *in vitro* do extrato etanólico de *Punica granatum* l. sobre a atividade de antibióticos**. 2014. Dissertação (Curso de graduação em Farmácia). Universidade estadual da Paraíba. Campina Grande. 2014.
- PESSINI, G. L. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 13, n. 1, p. 21-24, 2003.
- REICHLING, J. et al. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview. **Forsch Komplementmed**, v. 16, n. 1, p. 79-90, 2009.

- SANTOS, A. L. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro Patologia Med Lab**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.
- SANTOS, A. C. M. et al. A virulência de *Escherichia coli* patogênica extra-intestinal (ExPEC) em relação à idade e ao sexo do hospedeiro. **O Mundo da Saúde**, v. 33, n. 4, p. 392-400, 2009.
- SANTOS, M. G. C.; PEREIRA, J. V.; NÓBREGA, D. R. M. Potencial antifúngico da *Punica granatum* Linn na odontologia. **Rev. Bras. Pesq. Saúde**, v. 16, n. 1, p. 112-117, 2014.
- SCHINDLER, B. D.; JACINTO, P.; KAATZ, G. W. Inhibition of drug efflux pumps in *Staphylococcus aureus*: current status of potentiating existing antibiotics. **Futuro Microbiologia**, v. 8, n. 4, p. 491-507, 2013.
- SHAYGANNIA, E. et al. A Review Study on *Punica granatum* L. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, v. 21, n. 3, p. 221-227, 2015.
- TAYLOR, P. W. Alternative natural sources for a new generation of antibacterial agents. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 42, n. 1, p. 195-201, 2013.
- TELES, D. G.; COSTA, M. M. Estudo da ação antimicrobiana conjunta de extratos aquosos de Tansagem (*Plantago major* L., *Plantaginaceae*) e Romã (*Punica granatum* L., *Punicaceae*) e interferência dos mesmos na ação da amoxicilina in vitro. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 16, n. 2, p. 323-328, 2014.
- VENDRUSCOLO, G. S.; MENTZ, L. A. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **IHERINGIA, Sér. Bot.**, v. 61, n. 1-2, p. 83-103, 2006.
- WERKMAN, C. et al. Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 10, n. 3, p. 104-111, 2008.
- ZAGO, A. M. et al. Morfonatomia do caule de *Cuphea glutinosa* Cham. & Schltdl. (*Lythraceae*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 720-726, 2009.