

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

VANESSA LIMA BEZERRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DE
EUGENOL**

Juazeiro do Norte – CE
2018

VANESSA LIMA BEZERRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DE
EUGENOL**

Trabalho de Conclusão de Curso – 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.

Orientadora: Ma. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro

Juazeiro do Norte – CE
2018

VANESSA LIMA BEZERRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DE
EUGENOL**

Trabalho de Conclusão de Curso – 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: Ma. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro

Data de aprovação: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof(a): Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro
Orientadora

Prof(a): Rakel Olinda Macedo da Silva
Examinadora 1

Prof(a): Janaina Esmeralda Rocha
Examinadora 2

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATÓRIA DE EUGENOL

Vanessa Lima Bezerra ¹; Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro ².

RESUMO

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a atividade antibacteriana e modulatória da substância Eugenol frente as linhagens padrões e multirresistentes de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A atividade antibacteriana e modulatória foi testada frente as linhagens bacterianas utilizando a técnica de disco difusão, através de um inóculo de 0,5 da escala de MacFarland em caldo BHI, que posteriormente foi semeado em ágar Müeller-Hinton, adicionado de discos de Cloranfenicol e Sulfonamida isolados e combinados a Eugenol e encubados em estufa a 37°C, com posterior medição dos halos de inibição. Eugenol apresentou resultados de inibição bacteriana na concentração pura em todos os espécimes testados e ao ser associado ao Cloranfenicol proporcionou um efeito potencializador sinérgico contra a bactéria *Escherichia coli* 25922, efeito antagônico contra *E. coli* 27 e em ambas as cepas de *Staphylococcus aureus* houve uma relação antagonista, e com Sulfonamida resultou em efeitos de antagonismo nas duas cepas de *S. aureus* e na cepa *E. coli* 27, enquanto que na cepa padrão houve um aumento do halo de inibição de forma estaticamente não significativa. Diante dos resultados, é possível identificar que o Eugenol é um agente antibacteriano que futuramente pode vir a ser utilizado como fármaco, além de interferir de alguma maneira na ação de medicamentos já comercializados, assim vê-se a necessidade de estudar a interação dessa substância com outros antimicrobianos para que possa ser elucidado de maneira mais eficiente como uma alternativa no combate a resistência microbiana.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Resistência bacteriana. *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus*.

¹ Discente do curso de Biomedicina, vanelima2@hotmail.com, Centro Universitário Doutor Leão Sampaio.

² Mestre em Bioprospecção Molecular, karollynasilva@leaosampaio.edu.br, Centro Universitário Doutor Leão Sampaio.

EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL AND MODULATORY ACTIVITY OF EUGENOL

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the bacterial and modulatory reaction capacity of the Eugenol molecule against the concentration and multiresistant patterns of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The antibacterial and modulatory activity was tested as a bacterial line using a disc diffusion technology through a 0.5-fold inoculum of the MacFarland scale in BHI broth, which was added to this product as a scale marker of Chloramphenicol and Sulfonamide and combined with Eugenol and incubated in a greenhouse at 37°C, with subsequent measurement of the inhibition halos. Eugenol the results of bacterial inhibition results at pure concentration in all tested specimens and when associated with Chloramphenicol provided a synergistic potentiating effect against an *Escherichia coli* 25922 bacterium, an antagonistic effect against *E. coli* 27 and in both as strains of *Staphylococcus aureus* antagonistic relationship, and with Sulfonameda in relation to the antagonism in the two strains of *S. aureus* and in *E. coli* strain 27, whereas the standard was an increase of the inhibition halo in a non-significant statically way. In view of the results, it is possible to identify that eugenol is an antibacterial agent that can be used as a drug in the future, in addition to interfering in some way with the already marketed drugs, as well as the need to study an interaction of this substance with other antimicrobials so that it can be elucidated more efficiently as an alternative in the microbial.

Keywords: Eugenol. Medicinal plants. Bacterial resistance.

1. INTRODUÇÃO

As fontes de resistência microbiana são inúmeras, mas a fonte mais estabelecida é a relação entre o uso indiscriminado de antibióticos e o surgimento de patógenos resistentes a esses antimicrobianos (BARLETT, 2011). Estimativas sugerem que cerca de metade de todo o consumo de antibióticos pode ser evitado, mas em muitos locais esses são comprados sem receita médica ou aconselhamento de um profissional da saúde (WHO, 2005).

As pesquisas em busca de obter mais conhecimento nas diversas áreas da ciência estão aumentando cada vez mais, entretanto, nem sempre essas possibilidades são aproveitadas para melhorar o acesso das populações aos medicamentos que continuam com preços exorbitantes e incompatíveis com os orçamentos de saúde dos países (HASENCLEVER et al., 2017). Assim faz-se necessário uma série de estudos com plantas medicinais e compostos obtidos destas, principalmente para a identificação de espécies com ação farmacológica comprovada e/ou substâncias biologicamente ativas (MACHADO; OLIVEIRA, 2014).

Escherichia coli é um bacilo Gram-negativo, anaeróbios facultativos, não esporulados da família Enterobacteriaceae, cujo habitat natural é o trato gastrointestinal de humanos e animais de sangue quente (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Apesar de ser comensal, algumas cepas são capazes de causar doenças, sendo uma das espécies Gram-negativas mais comumente encontrado em humanos, e de servir como veículos de disseminação de resistência aos antibióticos e de determinados genes de virulência (SZMOLKA; NAGY, 2013).

O gênero *Staphylococcus* é amplamente difundido na natureza, inclusive como parte da microbiota de pele e mucosa de animais e aves. Algumas espécies de *Staphylococcus* são frequentemente reconhecidos como agentes etiológicos de muitas infecções oportunistas animais e humanas (COUTINHO et al., 2009). As espécies desse gênero são cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativas e catalase positivas, que fazem parte da família Micrococcaceae, sendo a bactéria *Staphylococcus aureus* considerada como a mais importante entre as espécies do seu gênero (PERES et al., 2017).

Um exemplo disso é Eugenol, composto fenólico volátil, principal constituinte do óleo essencial de cravo-da-índia. Essa substância é utilizada para produzir vanilina e como precursor para a fabricação de naftoquinonas, antraquinonas, dentre outros compostos. Eugenol é amplamente utilizado em perfumaria, como aromatizante de alimentos e cigarros e como anestésico, principalmente em tratamentos odontológicos (COSTA, 2000; OHKUBO; SHIBATA, 1997; MAZZAFERA, 2003).

Popularmente as plantas são amplamente utilizados para tratar doenças, mas sem nenhuma comprovação de sua eficácia e segurança. Devido essa prática empírica, inúmeros estudos vem sendo realizados nesse sentido com o propósito de entender a composição e possível ação de compostos derivados dessas plantas no combate a doenças, assim como expor uma ação potencializadora dos antimicrobianos disponíveis a fim de ser útil no combate a resistência. Diante disso o objetivo dessa pesquisa foi avaliar a atividade antibacteriana e modulatória da substância Eugenol frente a linhagens padrão e multirresistentes de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo experimental, de caráter quantitativo.

2.2. MATERIAIS

Os antibióticos Cloranfenicol e Sulfonamida foram obtidos de LaborClin, Brasil e os meios de cultura foram adquiridos de HiMedia, Índia. O composto eugenol foi obtido da empresa Sigma.

2.3. MICRORGANISMOS

Foram utilizadas as linhagens bacterianas padrão de *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e as linhagens multirresistentes de isolados clínicos *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358, todas cedidas pelo Instituto Oswaldo Cruz. Todas as linhagens foram mantidas em Caldo de Infusão Cérebro e Coração (BHI).

2.4. TESTE DE DISCO DIFUSÃO

Inicialmente foi preparado um inóculo de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL das cepas selecionadas em Caldo de Infusão Cérebro e Coração (BHI) (GARCIA; UEDA; MIMICA, 2011). Em um tubo contendo 5ml de solução salina foram acrescentados 500µl da suspensão bacteriana e com um swab estéril, o inóculo bacteriano foi espalhado uniformemente sobre a superfície do ágar Müeller-Hinton (MH) em semeadura de tapete, selando para que o inóculo recubra completamente o meio (SILVEIRA et al., 2009).

Utilizando-se uma pinça esterilizada, os discos estéreis de papel filtro impregnados com 10 µL de Eugenol puro e em cinco concentrações diferentes (1:1, 1:2, 1:4, 1:8 e 1:16), as quais foram obtidas através da diluição em água estéril, foram colocados na superfície da placa (SILVEIRA et al., 2009). Discos impregnados com água, controle negativo e discos contendo o antibiótico Amicacina, controle positivo foram colocados no ágar e as placas incubadas em estufa a 37°C por 24 horas (GARCIA; UEDA; MIMICA, 2011). O halo de inibição do crescimento foi medido utilizando uma régua milimetrada (SILVEIRA et al., 2009).

Foram utilizados ainda discos contendo antibióticos nas suas respectivas concentrações, que em seguida foram embebidos com 10 µL da CIM de Eugenol, e após isso distribuídas no ágar Muller-Hinton inoculado com as suspensões bacterianas. Após incubação das placas a 37 °C por 24 horas, os halos de inibição foram mensurados e os resultados analisados estatisticamente, comparando-os com os controles de antibióticos (CANTON; ONOFRE, 2010). Através desta metodologia, os halos de inibição dos antibióticos isolados e dos

antibióticos associados a substância foram comparados para verificar se houve algum tipo de interação.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos em média aritmética e desvio padrão, avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) seguido pelo post-test Bonferroni utilizando o software GraphPad Prism. Onde as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos testes de disco difusão para atividade antibacteriana do Eugenol houveram resultados de inibição do crescimento bacteriano com a utilização do produto puro em todos os espécimes testados, como pode ser visto na tabela 1, contudo não houve inibição do crescimento ou formação de halo em qualquer espécie estudada em nenhuma das diluições testadas (1:2, 1:4, 1:8 e 1:16).

Tabela 1. Halos de Inibição Bacteriana por Eugenol Puro

Cepa	Medida do Halo
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7,6mm
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	7mm
<i>Escherichia coli</i> 27	6,3mm
<i>Staphylococcus aureus</i> 358	5,9mm

Fonte: Dados da Pesquisa.

Do mesmo modo, o estudo de Silvestri et al. (2010) apresentou atividade antibacteriana de óleo essencial de *Eugenia caryophyllata*, composto principalmente por Eugenol, tanto na metodologia de disco difusão quanto em microdiluição. O mesmo ocorre com o óleo de *Cinnamomum zeylanicum* L. e de *Caryophyllus aromaticus* testado por Probst (2012) frente a linhagens de *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella*.

Das et al. (2016) estudaram o mecanismo de ação do Eugenol contra vários isolados clínicos de *S. aureus* e isolados resistentes à vancomicina, demonstrando que essa substância

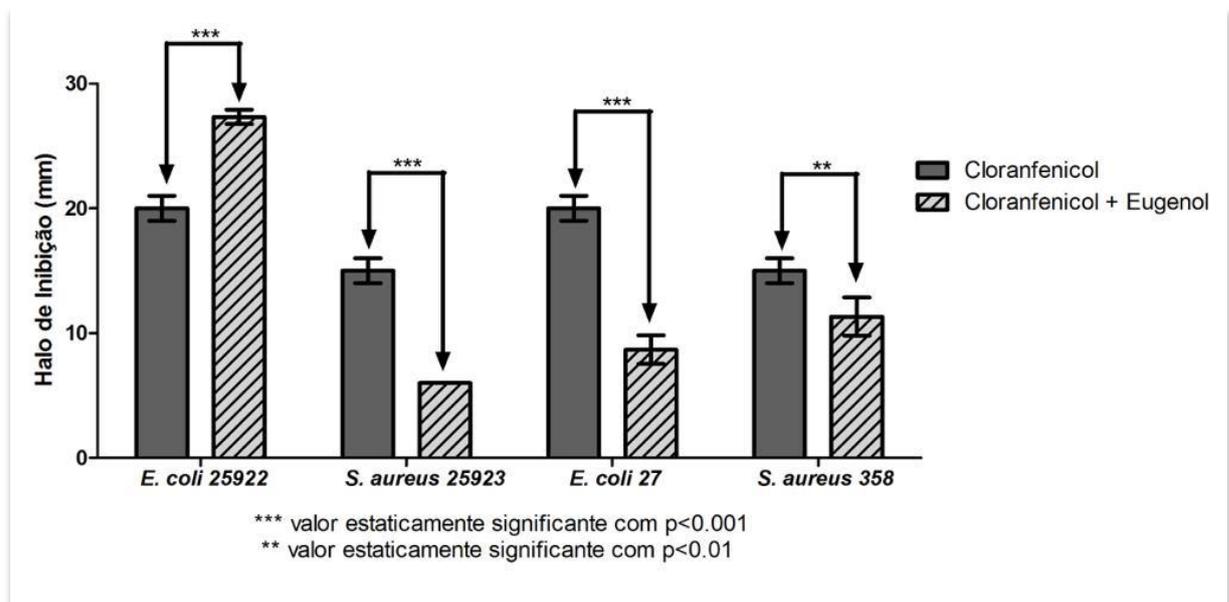
isolada foi capaz de desencadear citotoxicidade na célula bacteriana devido à produção intracelular de espécies reativas de oxigênio (EROs) o que induz a inibição do crescimento celular, ruptura da membrana celular e dano ao DNA, resultando em decomposição celular.

Estudos avaliando a atividade do Eugenol contra isolados de *S. aureus* resistentes a Meticilina (MRSA) e de *S. aureus* sensíveis a Meticilina (MSSA) demonstraram inibição equivalente do crescimento bacteriano dessas cepas, ao mesmo tempo que inibiu a formação de biofilme tanto em MSSA quanto em MRSA, de uma maneira concentração dependente (QIU et al., 2010; YADAV et al., 2015).

Um composto natural extraído de plantas pode facilitar a entrada do antibiótico através de camadas externas da parede celular bacteriana, causar a perda de efeitos inibitórios de proteção, dentre outras ações potencializadoras (SIQUEIRA, 2018). Concomitante a atividade antibacteriana do composto, os resultados dos testes modulatórios apresentaram alguns resultados significantes de sinergismo e antagonismo.

O Eugenol ao ser associado ao antibiótico Cloranfenicol proporcionou um efeito sinérgico contra a bactéria *Escherichia coli* 25922, enquanto que na cepa multirresistente *E. coli* 27 o efeito foi de antagonismo significativo. Em ambas as cepas de *Staphylococcus aureus* houve uma relação antagonista entre o produto e o antibiótico como pode ser visto na Figura 1.

Figura 1. Atividade modulatória de Cloranfenicol



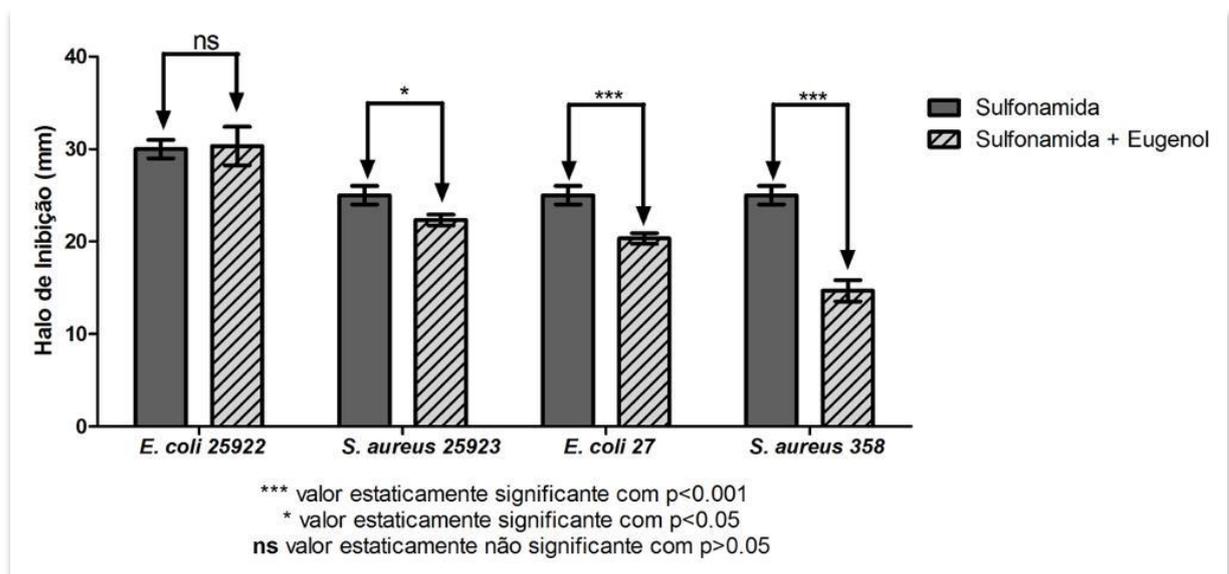
Fonte: Dados da pesquisa

O óleo essencial de *Caryophyllus aromaticus*, que apresenta Eugenol na sua composição, apresentou efeito sinérgico com Oxacilina e Tetraciclina contra cepas padrão de *S. aureus* e *E. coli*, através de disco difusão (PROBST, 2012). Com o mesmo óleo ocorreu sinergismo com várias drogas contra *S. aureus*, mas antagonismo e resultados não significantes contra *E. coli* no estudo de Zago et al. (2009).

Em 2015, o estudo realizado por Liu et al. evidenciou atividade sinérgica entre Eugenol e Estreptomicina contra *Listeria monocytogenes* e *Salmonella typhimurium* planctônicos e associados a biofilme. Estreptomicina agiu sinergicamente com Eugenol contra *S. typhimurium*, enquanto que apenas efeito aditivo foi observado contra *L. monocytogenes*.

A associação do produto isolado com Sulfonamida resultou em efeitos de antagonismo nas cepas de *S. aureus* padrão e multirresistente. Se tratando da espécie *E. coli* 25922 houve um aumento do halo de inibição de forma não significativa, no entanto na cepa multirresistente dessa espécie houve efeito antagônico entre o Eugenol e o antibiótico como pode ser visto na Figura 2.

Figura 2. Atividade modulatória de Sulfonamida



Fonte: Dados da pesquisa

Ao se avaliar a interação entre Eugenol em combinações com alguns antibióticas (Ácido Fusídico, Cefotaxima, Minociclina, Vancomicina, Ofloxacina e Rifampicina) contra MRSA, observou-se que a ação dessa substância era indiferente quando combinado com todos os antibióticos testados (KYAW; ARORA; LIM, 2012). O mesmo ocorreu em um estudo anterior

de Gallucci et al. (2006), onde a combinação de Eugenol e penicilina foi indiferente contra MRSA, mas interagiu de forma sinérgica com o antimicrobiano contra *E. coli*.

O óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L., composto majoritariamente por Eugenol, frente a *S. aureus* e *E. coli* apresentou efeito potencializador dos antimicrobianos testados pelo método de microdiluição, ao passo que através de contato gasoso o resultado difere através de um antagonismo com tetraciclina frente a Gram positiva testada (CALDAS, 2011). Esse resultado se repete no estudo de Silva (2015), onde o óleo associado a gentamicina potencializou o efeito contra a Gram negativa e diminui esse contra a Gram positiva.

O maior efeito sinérgico no estudo em questão ocorreu na espécie *Escherichia coli*, bactéria Gram negativa, e esse fenômeno pode ser explicado devido as diferenças químicas e estruturais encontradas entre sua parede celular e a da bactéria *Staphylococcus aureus*, Gram positiva, possuindo assim diferentes sítios de ação para fármacos como a camada de lipopolissacarídeos (LPS) ou a membrana externa, enquanto que a Gram positiva possui maior camada de peptídeoglicano (PINTO et al., 2001).

Na maioria das cepas testadas a modulação apresentou efeito antagônico entre as substâncias associadas, efeito esse ocasionado possivelmente devido alguma interferência do Eugenol nos mecanismos de ação desses fármacos, impedindo a inibição bacteriana em seu potencial esperado. Outra hipótese que poderia explicar esse fenômeno é o fato da substância diluir o antimicrobiano ao ser combinada a ele, diminuindo assim sua concentração e consequentemente diminuindo seu efeito.

A ingestão de medicamentos juntamente com chás e análogos é costume comum em diversas localidades devido ao conhecimento empírico dos benefícios das plantas no combate a doenças, todavia, sem a informação do possível antagonismo entre essas substâncias, que pode ocorrer em virtude da possível interferência de compostos isolados de plantas na ação dos fármacos, provavelmente devido a quelação mútua, sendo importante a elucidação da interação desses produtos naturais com os fármacos já comercializados (CARVALHO, 2011).

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nessa pesquisa demonstraram que Eugenol apresentou atividade antibacteriana contra todas as cepas testadas na concentração de 100%. Esse ainda apresentou sinergismo com Cloranfenicol sobre a cepa *E. coli* padrão e antagonismo com ambos os antibióticos para as demais espécies usadas no estudo. A partir desses resultados vê-se a necessidade de estudar a interação dessa substância com outros antimicrobianos e frente a

outras bactérias e sua possível toxicidade, para que possa vir futuramente contribuir no combate a resistência microbiana.

REFERÊNCIAS

BARLETT, J.G. A Call to Arms: The Imperative for Antimicrobial Stewardship. **Revista Clinical Infectious Diseases**, v.53, n.1. 2011.

CALDAS, F.R.L. **Avaliação das Atividades Antimicrobiana e Antioxidante de Óleos Essenciais de Folhas e Inflorescências de *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Bioprospecção Molecular). Universidade Regional do Cariri. Crato. 2011.

CANTON, M; ONOFRE, S.B. Interferência de Extratos da *Baccharis dracunculifolia* DC., Asteraceae, sobre a Atividade de Antibióticos Usados na Clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.3. 2010.

CARVALHO, A.C.B. **Plantas Medicinais e Fitoterápicos: Regulamentação Sanitária e Proposta de Modelo de Monografia para Espécies Vegetais Oficializadas no Brasil**. 2011. 318p. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde). Universidade de Brasília. Brasília. 2011.

COSTA, P.R.R. Safrol E Eugenol: Estudo da Reatividade Química e Uso em Síntese de Produtos Naturais Biologicamente Ativos e Seus Derivados. **Revista Química Nova**, v.23, n.3. 2000.

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. **Revista Biomed Central**, v.9, n.13. 2009.

DAS, B. et al. Eugenol Provokes ROS-Mediated Membrane Damage - Associated Antibacterial Activity Against Clinically Isolated Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains. **Libertas Academica**, v.9, n.1. 2016.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

GALUCCI, N. et al. Interaction between Terpenes and Penicillin on Bacterial Strains Resistant to Beta-Lactam Antibiotics. **Molecular Medicinal Chemistry**, v.10, n.1. 2006.

GARCIA, C.S; UEDA, S.M.Y; MIMICA, L.M.J. Avaliação da Atividade Antibacteriana in vitro de Extratos Hidroetanólicos de Plantas sobre *Staphylococcus aureus* MRSA e MSSA. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.70, n.4. 2011.

HASENCLEVER, L. et al. A Indústria de Fitoterápicos Brasileira: Desafios e Oportunidades. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v.22, n.8. 2017.

KYAW, B.M; ARORA, S; LIM, C.S. Bactericidal Antibiotic-Phytochemical Combinations against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.1, n.1. 2012.

LIU, Q. et al. Synergy among Thymol, Eugenol, Berberine, Cinnamaldehyde and Streptomycin against Planktonic and Biofilm-Associated Food-Borne Pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v.60, n.1. 2015.

MACHADO, A.C; OLIVEIRA, R.C. Medicamentos Fitoterápicos na Odontologia: Evidências e Perspectivas sobre o Uso da Aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n.2. 2014.

MAZZAFERA, P. Efeito Alelopático do extrato Alcoólico do Cravo-Da-Índia e Eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.2. 2003.

OHKUBO, T; SHIBATA, M. The Selective Capsaicin Antagonist Capsazepine Abolishes the Antinociceptive Action of Eugenol and Guaiacol. **Journal of Dental Research**, v.76, n.1. 1997.

PERES, V.N.P. et al. Isolamento e Identificação de *Staphylococcus aureus* em Fossas Nasais e Mãos de Profissionais da Saúde no Hospital Santa Lúcia em Maringá-PR. **Revista Uningá**, v.30, n.1. 2017.

PINTO, M.S. et al. Efeito de Extratos de Própolis Verde sobre Bactérias Patogênicas Isoladas do Leite de Vacas com Mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.6. 2001.

PROBST, I.S. **Atividade Antibacteriana de Óleos Essenciais e Avaliação de Potencial Sinérgico**. 2012. 102p. Dissertação (Mestre em Biologia Geral e Aplicada, Área de Concentração Biomoléculas – Estrutura e função). Universidade Estadual Paulista. Botucatu. 2012.

QIU, J. et al. Eugenol Reduces the Expression of Virulence-Related Exoproteins in *Staphylococcus aureus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.76, n.17. 2010.

SILVA, M.K.N. **Perfil Químico do Óleo Essencial de *Ocimum gratissimum* L. e Avaliação da Atividade Antibacteriana e Moduladora de Resistência à Antibióticos pelo Método de Contato Gasoso**. 2015. Monografia (Graduação em Biomedicina). Faculdade Leão Sampaio. Juazeiro do Norte. 2015.

SILVEIRA, L.M.S. et al. Metodologias de Atividade Antimicrobiana Aplicadas a Extratos de Plantas: Comparação entre Duas Técnicas de Ágar Difusão. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.90, n.2. 2009.

SILVESTRI, J.D.F. et al. Perfil da Composição Química e Atividades Antibacteriana e Antioxidante do Óleo Essencial do Cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v.57, n.5. 2010.

SIQUEIRA, I.B. **Potencial Antibacteriano do Óleo Essencial de *Croton tetradenius* (Baill.) Frente a Bactérias Uropatógenas e Sinergismo com Antibióticos**. 2018. 40p. Dissertação

(Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão. 2018.

SZMOLKA, A; NAGY, B. Multidrug Resistant Comensal *Escherichia coli* in Animals and its Impact for Public Health. **Revista Frontiers in Microbiology**, v.4, n.1. 2013.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Containing Antimicrobial Resistance**. Geneva. 2005.

YADAV, M.K. et al. Eugenol: A Phyto-Compound Effective against Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus* Clinical Strain Biofilms. **Public Library of Science**, v.10, n.3. 2015.

ZAGO, J.A.A. et al. Sinergismo Entre Óleos Essenciais e Drogas Antimicrobianas Sobre Linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* Isoladas de Casos Clínicos Humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.4. 2009.