

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

LARA CAROLINE DE GOUVEIA GOMES

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATORIA DO ÓLEO ESSENCIAL DO
BOTÃO FLORAL DE *Syzygium aromaticum* L.**

Juazeiro do Norte – CE
2019

LARA CAROLINE DE GOUVEIA GOMES

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATORIA DO ÓLEO ESSENCIAL DO
BOTÃO FLORAL DE *Syzygium aromaticum* L.**

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. Tassia Thais Al Yafawi

LARA CAROLINE DE GOUVEIA GOMES

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATORIA DO ÓLEO ESSENCIAL DO
BOTÃO FLORAL DE *Syzygium aromaticum L.***

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. Tassia Thais Al Yafawi

Data de aprovação: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof^a: Ma. Tassia Thais Al Yafawi
Orientadora

Prof^a: Ma. Rakel Olinda Macedo da Silva
Examinadora

Prof: Me. Cícero Roberto Nascimento Saraiva
Examinador

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por todas as bênçãos que me foi concedida. A minha família, por todo carinho, dedicação, apoio e incentivo durante toda a minha graduação. Também aos meus amigos por sempre acreditar em mim. E pôr fim aos meus professores que tive a honra de conviver e adquirir todo o conhecimento durante o curso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois é d'Ele que tiro forças para continuar e sem Ele nada disso seria possível.

Aos meus pais, Mary Nilda de Gouveia e Ozires de Araújo Gomes, em especial a minha mãe que sempre fez de tudo por mim durante toda essa jornada e é por ela que nunca desistir e sempre arranjei forças para continuar.

Aos meus queridos irmãos Luana Gouveia Gomes e Rodolfo de Gouveia Gomes que sempre se orgulharam de mim e sempre me deram apoio. Obrigado por estarem comigo em todos os momentos.

Aos meus tios/padrinhos Giltiene e Marcos que me acolheram tão bem em sua casa e cuidaram de mim da melhor forma, me fazendo sentir o aconchego de casa.

A minha querida orientadora, Ma. Tassia Thais Al Yafawi, que ajudou muito para que tudo isso fosse possível. Tenho muito carinho e admiração. Obrigada por sempre acreditar em mim.

Aos meus queridos amigos Paulo, Aparecida, Maria Eduarda, Dionara, Jayne, Jean e Israel que tive a honra de conhecer durante o curso e que estiveram sempre do meu lado, vou levar para sempre vocês no meu coração e todos os momentos de felicidades e dificuldade que passamos juntos.

A minha amiga de infância Amanda, que mesmo longe sempre me apoiou e acreditou em mim. Obrigada por sempre se dispor a me ouvir.

Ao meu querido professor Roberto, que foi muito importante para minha formação. Obrigada por toda ajuda durante meu último ano de faculdade.

Aos meus queridos professores de estágio, Yhan, Rakel, Karol, Livia, Leticia, Walber, Daiane, Fabrina por todo o conhecimento e ajuda a me tornar uma profissional competente, ética e sempre disposta a buscar novos conhecimentos.

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULATORIA DO ÓLEO ESSENCIAL DO BOTÃO FLORAL DE *Syzygium aromaticum* L.

Lara Caroline de Gouveia Gomes¹, Tassia Thais Al Yafawi²

RESUMO

Este estudo objetiva-se determinar a atividade antimicrobiana e modulatória do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* L. (cravo da Índia) frente a cepas bacterianas. Os botões florais secos da espécie *Syzygium aromaticum* L. foram obtidos em mercado no município de Juazeiro do Norte-CE no mês de agosto/2019. O óleo essencial foi obtido utilizando-se o sistema de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger. A concentração inibitória mínima (CIM) do Óleo essencial de *Syzygium aromaticum* L. foi determinada em ensaio de microdiluição e na atividade modulatória as soluções do óleo foram testadas em concentrações sub-inibitórias (CIM/8). No ensaio de microdiluição, o óleo essencial do cravo da Índia apresentou resultados de concentração inibitória mínima (CIM) de 128µg/mL frente as cepas multirresistente e padrão de *Escherichia coli* e de 256 µg/mL para cepas multirresistente e padrão de *Staphylococcus aureus* e no ensaio de modulação foi possível observar que o antibiótico amicacina, quando associado ao óleo essencial do cravo da Índia, frente a cepa da bactéria *Escherichia coli* obteve um efeito antagônico. Já associado ao antibiótico gentamicina não apresentou resultado estaticamente significativo com $p > 0.05$. Dessa forma, o óleo essencial do cravo da Índia possui uma promissora atividade antibacteriana quando utilizado isoladamente frente as bactérias, mas a associação do produto natural mais as classes de antibióticos dos aminoglicosídeos pode tornar o tratamento menos eficaz.

Palavras-chave: Atividade antibacteriana, atividade modulatória, *Syzygium aromaticum* L.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND MODULATORY OF ESSENTIAL OIL FROM FLORAL BUTTON OF *Syzygium aromaticum* L.

ABSTRACT

This study aims to determine the antimicrobial and modulatory activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* L. (clove) against bacterial strains. Dry flower buds of the species *Syzygium aromaticum* L. were obtained from a market in the city of Juazeiro do Norte-CE in August / 2019. The essential oil was obtained using the hydro distillation system in Clevenger type apparatus. The minimum inhibitory concentration (MIC) of *Syzygium aromaticum* L. essential oil was determined in a microdilution assay and in the modulatory activity the oil solutions were tested at sub-inhibitory concentrations (MIC / 8). In the microdilution assay, clove essential oil showed minimum inhibitory concentration (MIC) results of 128µg / mL versus multidrug resistant strains and *Escherichia coli* standard and 256 µg / mL for multidrug resistant strains and *Staphylococcus aureus* and Modulation test showed that the antibiotic amikacin, when associated with clove essential oil, against the strain of the bacterium *Escherichia coli* had an antagonistic effect. Already associated with the antibiotic gentamicin did not present statistically significant result with $p > 0.05$. Thus, clove essential oil has promising antibacterial activity when used alone against bacteria, but the combination of the

1-Discente do curso de Biomedicina do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio-UNILEÃO, lara_gouveia@hotmail.com, Juazeiro do Norte-CE.

2- Docente do curso de Biomedicina do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio-UNILEÃO, tassiathaisalencar@gmail.com, Juazeiro do Norte-CE.

natural product plus the antibiotic classes of aminoglycosides may make the treatment less effective.

Key-word: Antibacterial activity, Modulatory activity, *Syzygium aromaticum L.*

1 INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas são causadas por microrganismos patogênicos que invadem o tecido e causam diversas alterações no hospedeiro. É um dos graves problemas de saúde pública pelo aumento da resistência e tornando-se difícil tratamento (GUIMARÃES et al., 2017).

O conhecimento popular de plantas medicinais com fins terapêuticos contribui de maneira efetiva para ciência, permitindo que sejam realizados estudos mais detalhados das plantas, com intuito de descoberta de seus princípios ativos, suas ações e quais efeitos esperados, que serão utilizadas na fitoterapia e tratamento de diversas doenças (ALCANTARA; JOAQUIM; SAMPAIO, 2015; GONÇALVES et al., 2017).

A resistência de microrganismos, que é caracterizada quando o princípio ativo do medicamento não consegue mais atuar no seu alvo farmacológico as drogas convencionais, é um dos principais motivos que levaram a pesquisa de novas formas de tratamento com produtos naturais. Os óleos essenciais de plantas possuem em sua composição diversos metabólicos, que são capazes de inibir o crescimento de microrganismos, por conseguirem atuar em diversos sítios de ação (COSTA et al., 2017; SANTOS; PICCOLI; TEBALDI, 2017).

Dentre as bactérias que apresentam mecanismo de resistência encontra-se a *Escherichia coli* que são bacilos Gram-negativos, onde a maioria das cepas não é patogênica, porém algumas linhagens apresentam fatores de virulência que lhes conferem patogenicidade, dentre elas a *E. coli* enteropatogênica (EPEC) que é principal causadora de diarreia em crianças. A bactéria *Staphylococcus aureus* é um grande patógeno humano, onde cerca de 30% da população é colonizada por essa espécie, sendo um dos principais causadores de bacteremia e endocardite infecciosa. (INGRAHAM; INGRAHAM, 2011; MURRAY; ROSENTHAL; PFLER, 2006; SBP, 2016 SILVA; CAMPOS, 2008).

O aumento no consumo de medicamentos fitoterápicos pela população, se dá por cada vez mais o conhecimento sobre suas propriedades químicas e seus possíveis efeitos benéficos e maléficis a saúde. A busca por terapias menos agressivas a saúde é outro fator relevante (GOUVEIA et al., 2016).

Dentre as diversas espécies utilizadas para uso fitoterápico, temos o *Syzygium aromaticum L.* que é popularmente conhecido como cravo-da-índia e tem sua origem na

Indonésia. No Brasil, seu principal cultivo é nos estados de Bahia e São Paulo. Pertence à família Myrtaceae, que possui cerca de 140 gêneros e 300 espécies ricas em óleos essenciais (FEITOSA; BASTOS; SIQUEIRA, 2017; RODELLA, 2015; TEODORO, 2016).

A planta possui copa alongada e pode atingir em média 8-10 metros de altura. Suas folhas têm de 7-11 centímetros de comprimento e apresentam características ovais e aromáticas. Os botões florais não abertos (secos) são principalmente utilizados na culinária, pois apresentam características aromáticas e sabor picante (AFFONSO et al., 2014; CASTRO; FERREIRA, 2016).

Esta espécie vegetal possui uma ampla variedade de compostos químicos em seu óleo essencial. Dentre os compostos químicos presentes no óleo, o eugenol é o componente mais importante e que apresenta efeitos biológicos como atividade antimicrobiana, inseticida e antioxidante. Contudo, o óleo essencial do cravo da Índia ainda apresenta outras atividades como antidiabética, antitumoral, efeito anestésico, anti-inflamatório, antiúlcero, antiviral, antifúngica, antiprotozoário e atividade contra pediculoses e ácaros (AFFONSO et al., 2012; PARTOVI; TALEBI; SHARIFZADEH, 2018).

Dessa forma, é de suma importância que estudos com plantas sejam realizados para favorecer o surgimento de novos fármacos através da descoberta de compostos ativos. O presente trabalho objetiva-se determinar a atividade antibacteriana e modulatória do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* L. (cravo da Índia) frente a cepas bacterianas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 TIPO DE ESTUDO E COLETA DO MATERIAL VEGETAL

Trata-se de um estudo de cunho experimental de caráter quantitativo (GERHARDT & SILVEIRA, 2009). Os botões florais secos da espécie *Syzygium aromaticum* L. foram obtidos em um mercado no município de Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil no mês de agosto/2019.

2.2 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Syzygium aromaticum* L.

O óleo essencial foi obtido utilizando-se o sistema de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger modificado por Gottlieb e Magalhães (1960). Os botões florais secos de *Syzygium aromaticum* L. foram colocadas em balão de vidro de 5L, acrescida de 3L de água destilada e aquecidas por 2h. Após esse período, a mistura água/óleo obtida foi separada, tratada com

sulfato de sódio anidro, filtrada e o óleo obtido (OESA) e mantida sob-refrigeração até o momento das análises.

Para os testes foi utilizada uma solução preparada a partir do óleo essencial sob uma concentração de 10 mg/mL, dissolvida em DMSO (Dimetilsulfóxido, Sigma-Aldrich®), em seguida diluída com água destilada estéril para se obter uma concentração de 1024 µg/mL.

2.3 MATERIAL BACTERIOLÓGICO

Os microrganismos utilizados na pesquisa foram fornecidos pelo Centro Universitário Leão Sampaio. As linhagens trabalhadas foram cepas padrões de *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e linhagens multirresistentes de *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 35, com perfil de resistência bacteriano descrito na tabela 1. Antes do ensaio, as células foram cultivadas por 24h a 37°C em Brain Heart Infusion (BHI), Difco Laboratories LTDA.

Tabela 1. Perfil de resistência

Bactéria	Nº	Sítio de coleta	Perfil de resistência
<i>Staphylococcus aureus</i>	SA 358	Ferida cirúrgica	Oxa, Gen, Tob, Ami, Can, Neo, Para, But, Sis, Net
<i>Escherichia</i>	EC27	Ferida cirúrgica	Ast, Ax, Amp, Ami, Amox, Ca, Cfc, Cf, Caz, Cip, Clo, Imi, Can, Szt, Tet, Tob

Perfil de resistência: Ami=amicacina; Sam=ampicilina-sulbactam; Cip=ciprofloxacina; Imi=imipenem; Tig=tigeciclina. Ast-aztreonan; Ax- Amoxicilina; Amp-ampicilina; Amox-amoxicilina, Ca-cefadroxil; Cfc-cefaclor; Cf- cefalotina; Caz-ceftazidima; Clo –clorafenicol; Can-canamicina; Szt-sulfametrim, Tet-tetraciclina; Tob- tobramicina; Oxa- oxacilina; Gen-gentamicina; Neo- neomicina; Para- paramomicina; But- butirósina; Sis-sisomicina; Net- netilmicina.

2.4 TESTES DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA, DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM).

A concentração inibitória mínima (CIM) do Óleo essencial de *Syzygium aromaticum* L. foi determinada em ensaio de microdiluição em caldo (NCCLS 2003), para isso foi utilizado inóculo de 100 µL de cada cepa preparada em caldo BHI que na concentração de 10⁵ UFC/mL dispostas em placas de microtitulação com 96 poços, e diluídos seriadamente em ½. Em cada

poço foi adicionado 100µL da solução da amostra. As concentrações finais variaram entre 512 - 8 µg/mL. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas e após esse período a leitura foi evidenciada pelo uso de resazurina (SALVAT et al., 2001). Com isso foi determinado a CIM pela menor concentração de inibição do crescimento.

2.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA DA RESISTÊNCIA À AMINOGLICOSÍDEOS

Na avaliação a atividade do Óleo essencial de *Syzygium aromaticum L.* como modulador da ação antibacteriana, foi utilizado à metodologia proposta por COUTINHO et al., 2008, nela a solução do óleo foi testada em concentrações sub-inibitórias (CIM/8), para isso nas placas foram dispostas 100µL de solução contendo BHI 10%, mais inoculo bacteriano e o óleo essencial, e distribuídos em cada poço no sentido alfabético da placa. Em seguida, 100µL da droga foi misturada ao primeiro poço, procedendo a microdiluição em série, numa proporção de 1:1 até a penúltima cavidade, a última cavidade foi reservada ao controle. As concentrações de aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina) variaram gradualmente de 5000 a 2,44µg/mL. Posteriormente as placas foram incubadas a 35°C por 24 horas e após esse período a leitura foi evidenciada pelo uso de resazurina. Todos os antibióticos testados foram obtidos junto a Sigma.

2.6 ANÁLISE DE DADOS

Os resultados dos testes foram obtidos em triplicata e expressos como média geométrica. Para análise estatística foi aplicada a ANOVA seguida do Bonferroni post tests. Utilizando o software GraphPad Prisma 6.0, considerando significância com $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos no ensaio de microdiluição, o óleo essencial de *Syzygium aromaticum L.* (OESA) apresentou resultados de concentração inibitória mínima (CIM) de 128 µg/mL para cepas padrão e multirresistentes de *Escherichia coli* e de 256 µg/mL para cepas padrão e multirresistentes de *Staphylococcus aureus*, como mostrado na tabela 1.

Tabela 1. Determinação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* L. frente aos isolados de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Cepa bacteriana	CIM
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	128 µg/mL
<i>Escherichia coli</i> 27	128 µg/mL
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	256 µg/mL
<i>Staphylococcus aureus</i> 35	256 µg/mL

Silva et al. (2015), ao realizarem um estudo sobre a determinação da CIM e CBM (concentração bactericida mínima) do OESA obtiveram resultados para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* de 500µg/ml, mas determinaram que o OESA possuía baixa ação antimicrobiana, pois segundo Holetz et al. (2002), quando as concentrações se encontram entre 500-1000µg, os agentes antimicrobianos possuem baixa atividade.

Testes realizados por Baima et al. (2017) com o OESA, obtiveram resultados semelhantes ao do presente estudo com CIM de 100 µg/mL para *Escherichia coli* e 200µg/mL para *Staphylococcus aureus*. Santos et al. (2011), ao desenvolverem estudos sobre a ação antimicrobiana do OESA obtiveram resultados de CIM de 500 µg/mL para *Staphylococcus aureus* e 100 µg/mL para *Escherichia coli*.

Guimaraes et al. (2017), em seus estudos utilizando os métodos de disco difusão e orifício em Ágar, demonstraram resultados significativos de inibição do óleo essencial do cravo da índia frente as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Pelo método de difusão em disco apresentou resultado de 11mm e 12mm para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* respectivamente. Já pelo método de orifício em Ágar apresentou resultados de 19mm e 17mm para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* respectivamente.

O presente estudo evidenciou uma maior inibição frente a bactéria Gram-negativa em relação a Gram-positiva. Alguns estudos, como o realizado por Silva et al. (2009), evidenciou que os óleos essenciais em sua grande maioria, possui melhor ação para bactérias Gram-positivas do que para Gram-negativas, pois uma das explicações para esse fato é a presença da camada de lipopolissacarídeo na parede das bactérias Gram-negativas e ausência nas Gram-positivas.

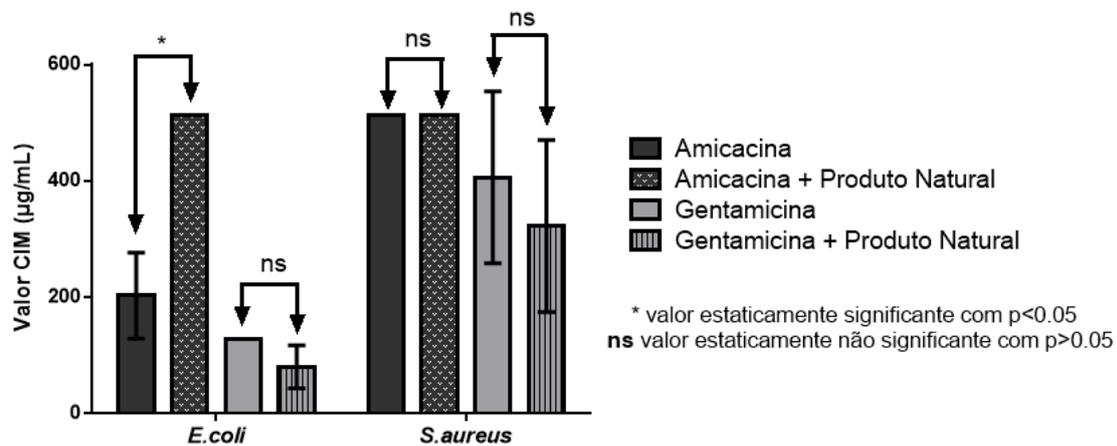
Silvestre et al. (2015), enfatiza que os componentes dos óleos essenciais podem exercer ação antibacteriana de três formas diferentes, sendo elas, a capacidade de interferir nas camadas fosfolipídicas da parede bacteriana, permitir o aumento da permeabilidade e conseqüentemente perda dos seus constituintes e por alterar o sistema enzimático da célula.

Estudos realizados por Scherer et al. (2009), demonstra que OESA tem como componente majoritário o eugenol (83,75%), resultado muito parecido encontrado por Partovi, Talebi, Sharifzadeh. (2018), que encontrou em seus estudos 96,81%.

Affonso et al. (2012), determina que o principal mecanismo de ação do eugenol é a capacidade aumentar a permeabilidade da membrana celular, por possui intenso poder penetrativo. Ainda em seus estudos, mostram que o OESA teve ação antibacteriana frente as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus epidermidis*.

De acordo com os dados demonstrados no gráfico 1, foi possível observar que o antibiótico amicacina, quando associado ao OESA, frente a cepa da bactéria *Escherichia coli* obteve um efeito antagônico, por outro lado, não apresentou resultado estaticamente significativo para *Staphylococcus aureus*. O OESA quando associado ao antibiótico gentamicina não apresentou resultado estaticamente significativo com $p > 0.05$ para as bactérias testadas.

Gráfico 1. Concentração inibitória mínima ($\mu\text{g/mL}$) de aminoglicosídeos na ausência e presença do OESA frente a *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 35.



Sales et al. (2017), em seus estudos com o óleo essencial da espécie *Piper tuberculatum*, pertencente à família Piperaceae, apresentou resultado muito semelhantes ao do presente, onde ao associar o óleo com o antibiótico amicacina, também apresentou resultado antagônico para as cepas multirresistentes de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Estudos realizados por Aguiar et al. (2014), com o óleo essencial da espécie *Plectranthus amboinicus* Lamiaceae, pertencentes à família Lamiaceae demonstram resultados de sinergismos quando associados aos antibióticos amicacina e gentamicina frente as bactérias

multirresistentes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Esse efeito é explicado por essa espécie possuir em sua composição metabólicos secundários terpenicos que são capazes de modificar a parede celular facilitando a entrada de substâncias (MATIAS et al., 2010).

Não foram encontrados estudos utilizando a espécie de *Syzygium aromaticum* L. utilizando a metodologia de modulação.

4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nesse estudo, o OESA possui uma promissora atividade antibacteriana quando utilizado isoladamente frente as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Entretanto, a associação do produto natural mais as classes de antibióticos dos aminoglicosídeos pode tornar o tratamento menos eficaz facilitando o surgimento da resistência bacteriana aos mesmos antibióticos.

Dessa forma, é necessários estudos que elucidem a composição química do óleo essencial para determinação do componente majoritário para avaliar o papel desses componentes na atividade antibacteriana e modulatória do mesmo.

REFERENCIAS

AFFONSO, R. S. et al. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. **Revista Virtual Química**, v. 4, n. 2, 2012.

AFFONSO, R. S. et al. Quantificação e Caracterização dos Principais Componentes do Extrato Etanólico de Cravo-da-Índia *Syzygium aromaticum* [L.] Merr. et Perry. **Revista Virtual Química**, v. 6, n. 5, 2014.

AGUIAR, J. J. S. et al. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* Lamiaceae. e seu potencial modulatório sobre aminoglicosídeos. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 2, n. 4, 2014.

ALCANTARA, R. G. L.; JOAQUIM, R. H. V. T.; SAMPAIO, S. F. Plantas medicinais: o conhecimento e uso popular. **Revista APS**, v. 18, n. 2, 2015.
antimicrobial activity. Letters in Applied Microbiology, v. 32, 2001.

BAIMA, P. T. S. et al. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) frente à cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). In: 57º Congresso Brasileiro de Química, 57., 2017. Gramado. **Anais do Congresso Brasileiro de Química**. Gramado: FAURGS, 2017.

CASTRO, C. M.; FERREIRA, T. C. **Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.** 2016. TCC (Bacharel em Biomedicina)- Faculdade de Americana, Americana, 2016.

COSTA, A. P. M. et al. Resistência antimicrobiana e a implementação da rdc 20/2011. **ÚNICA Cadernos Acadêmicos**, v. 3, n. 1, 2017.

COUTINHO, H. D. M. et al. In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-MRSA strains. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, 2008.

FEITOSA, J. G.; BASTOS, N. S.; SIQUEIRA, P. K. J. **Aplicação e avaliação do óleo de cravo-da-índia como medida de combate e controle frente à *Aedes aegypti*.** 2017. Monografia (Bacharel em Farmácia)- FUNVIC Faculdade de Pindamonhangaba, São Paulo, 2017.

GERHARDT, T. E.; SILVEIRA, D. T. **Métodos de pesquisa.** 1a edição. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, v. 1, 2009.

GONÇALVES, R. N. et al. Plantas medicinais: relacionando conhecimento popular e científico na atenção primária à saúde. **Visão Acadêmica**, v. 18, n. 4, 2017.

GOTTLIEB, O.R.; MAGALHAES, M. T. **Estudo de Plantas odoríferas brasileiras, canela, sassafras, casca preciosa, lírio do brejo.** Rio de Janeiro: Instituto de Química Agrícola, 1960. 5p.

GOUVEIA, E. V. A. et al. Consumo de medicamentos fitoterapicos em uma faculdade particular do sertão central cearense. In: 10ª Mostra Científica da Farmácia, 10., 2016, Quixadá. **Anais da 10ª Mostra Científica da Farmácia.** Quixadá: Universitário Católica de Quixadá, 2016.

GUIMARÃES, C. C. et al. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista brasileira de Biociência**, v. 15, n.2, 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, 2002.

INGRAHAM, J. L.; INGRAHAM, C. A. **Introdução à microbiologia:** uma abordagem baseada em estudos de casos, 3. Ed. São Paulo: Cengage Learning, 2011.

MATIAS, E. F. F. **Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora da resistência bacteriana à aminoglicosídeos de extratos polares e apolares de *Croton campestris* A. (velame), *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca) e *Cordia verbanacea* DC. (erva-baleeira).** Dissertação de Mestrado em Bioprospecção Molecular, Programa de pós-graduação em bioprospecção molecular. URCA- Universidade Regional do Cariri. 2010.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia médica**, 5. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS – NCCLS. **Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico: Norma Aprovada**. 6. ed. Norma M7-A6 do NCCLS, v. 22, n. 2, 2003.

PARTOVI, R.; TALEBI, F.; SHARIFZADEH, A. Antimicrobial efficacy and chemical properties of *Caryophyllus aromaticus* and *Origanum majorana* essential oils against foodborne bacteria alone and in combination. **International Journal of Enteric Pathogens**, v. 6, n. 4, 2018.

RODELLA, F. M. **Extração e atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo-da-índia**. 2015. TCC (Graduação em Química)- Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, Assis, 2015.

SALES, V. S. et al. Modulação *in vitro* da atividade antibiótica pelo óleo essencial dos frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 22, n. 1, 2017.

SALVAT, A. A. et al. **Screenng of some plants from northern Argentina for their antimicrobial activty**. Letters in Applied Microbiology, v. 32, 2001.

SANTOS, C. H. S.; PICCOLI, R. H.; TEBALDI, V. M. R. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 76, 2017.

SANTOS, J. C. et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* dos óleos essenciais de orégano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, 2011.

SBP, SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, DEPARTAMENTO CIENTÍFICO DE NEFROLOGIA. **Infecção do Trato Urinário**, n. 1, 2016.

SCHERER, R. et al. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 2009.

SILVA, A. A. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Thymus vulgaris* (tomilho), *Syzygium aromaticum* (cravo da índia) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e dos conservantes benzoato de sódio e sorbato de potássio em *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 33, n. 1, 2015.

SILVA, D. C. V.; CAMPOS, L. C. *Escherichia coli* que causa infecções extra-intestinais (ExPEC-Extraintestinal Pathogenic E. coli). In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, 2008. p. 331-319.

SILVA, M. T. N. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista brasileira de plantas mediciniais**, v. 11, n. 33, 2009.

SILVESTRE, J. D. F. et al. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Ceres**, v. 57, n. 5, 2015.

TEODORO, R. A. R. **Microencapsulação do óleo essencial de cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus L.*) por secagem por atomização**. 2016. Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2016.