

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO DE ALECRIM-DO-CAMPO (*BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA*) SOBRE BACTÉRIAS GRAM NEGATIVAS E GRAM POSITIVAS

Killarney Ataíde Soares – Faculdade Anhanguera de Brasília

Anselmo Resende – Faculdade Anhanguera de Brasília

Waltercides Silva Júnior – Faculdade Anhanguera de Brasília

Cristina Pandolfo – Faculdade União Bandeirante - São José/SC

RESUMO: Neste estudo foi investigada a ação antimicrobiana e inibição *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Baccharis dracunculifolia* (alecrim-do-campo) sobre cepas de bactérias gram negativas e gram positivas. Os óleos essenciais obtidos de plantas são fontes em potencial de substâncias biologicamente ativas, entre elas o alecrim. As propriedades mais estudadas são as antimicrobianas, antitumorais e inseticidas. Observou-se ação antimicrobiana, e esta ação variou conforme a espécie de bactéria testada, uma vez que a sensibilidade das bactérias Gram-positivas foram maiores que as Gram-negativas. Não foi quantificado o parâmetro de toxicidade dessa planta e como ocorre com antibióticos, o uso inconsequente desta pode trazer consequências indesejáveis quando consumida no combate às infecções. Assim espera-se que mais trabalhos sejam feitos aprofundando o assunto no sentido de se determinar os parâmetros de resistências das cepas aos extratos consumidos popularmente.

ABSTRACT: In this study it was investigated antimicrobial action and *in vitro* inhibition of hydroalcoholic extract of *Baccharis dracunculifolia* (alecrim-do-campo) on strains of gram-negative and Gram-positive bacteria. Essential oils obtained from plants are potential sources to biologically substances, among them the alecrim-do-campo. The most studied are the anti-microbial properties, antitumor and insecticides. If antimicrobial action was observed, and this action varied depending on the species of bacteria tested, since the sensitivity of Gram-positive bacteria were bigger than gram-negative bacteria. Was not quantified toxicity parameter of this plant and as with antibiotics, using inconsequential this may bring undesirable consequences when consumed in combating infections. Thus it is expected that more work be done to deepen the subject in order to determine the parameters of resistance of the strains to popularly consumed plant extracts.

PALAVRAS-CHAVE:

Baccharis dracunculifolia; Alecrim-do-campo; extrato; atividade antibacteriana.

KEYWORDS:

Baccharis dracunculifolia; Alecrim-do-campo; plant extract; antibacterial activity.

Artigo Original

Recebido em: 20/12/2013

Avaliado em: 08/01/2014

Publicado em: 28/11/2014

Publicação

Anhanguera Educacional Ltda.

Coordenação

Instituto de Pesquisas Aplicadas e Desenvolvimento Educacional - IPADE

Correspondência

Sistema Anhanguera de Revistas Eletrônicas - SARE
rc.ipade@anhanguera.com

1. INTRODUÇÃO

O alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*), arbusto que cresce naturalmente no sul e sudeste do Brasil, cujas folhas são pontuadas por tricomas secretores ricos em metabólitos secundários e também apresentam dutos secretores, possuem estruturas que produzem e armazenam os óleos essenciais.

O gênero *Baccharis*, pertencente à família *Asteraceae*, composto por mais de 500 espécies distribuídas pela América Latina, sobretudo em países como Brasil, Argentina, Colômbia, Chile e México, ocupando as regiões mais elevadas. O alecrim-do-campo é um arbusto dióico, perene, lenhoso e com altura de 2 a 3 metros (Figura 1). Apresenta características próprias de plantas invasoras e colonizadoras por produzir um grande número de aquênios e uma alta capacidade de crescimento natural, ocorrendo freqüentemente em áreas perturbadas e de pastagens. A sua floração ocorre após o período de chuvas, apresentando um pico no mês de novembro (BOLDT, 1989; ESPÍRITO-SANTO & FERNANDES, 1998).

A *B. dracunculifolia* tem sido estudada com admirável freqüência em função do seu emprego e das suas potencialidades. No primeiro caso, fazem uso as indústrias farmacêuticas na comercialização do própolis verde -produzido por abelhas da espécie *Apis mellifera* L. - (PARK et al., 2004; Alencar et al., 2005) além da indústria alimentícia que o emprega na forma de alimentos funcionais (ACKERMANN, 1991).

Suas potencialidades, por outro lado inspiraram diversos trabalhos dadas as suas comprovadas atividades farmacológicas, como a antimicrobiana, antiinflamatória, a cicatrizante, a anestésica, anti-*Trypanosoma cruzi*, anticariogênica, antiviral, anticarcinogênica e antioxidante (MARCUCCI et al., 2001, MONTPIED et al., 2003, GHISALBERTI, 1989, BURDOCK, 1998, CUNHA et al., 2004, DUARTE et al. 2003, ISHIKAWA et al., 2004).

No Brasil, muitas espécies são utilizadas na medicina popular para controle ou tratamento de várias doenças. Os óleos essenciais de plantas são considerados fontes de substâncias biologicamente ativas. A família *Asteraceae* tem sido amplamente estudada quanto à composição química e atividade biológica. No gênero *Baccharis*, os compostos mais estudados são os flavonoides e os terpenoides (GELINSKI et al., 2007).

Alencar et al. (2005) e Park et al. (2004) identificaram algumas substâncias químicas idênticas (flavonóides e ácidos fenólicos). Dentre os compostos majoritários encontrados no extrato metanólico das diferentes fases de desenvolvimento da folha da *B. dracunculifolia* e no extrato etanólico da própolis, o ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (Artepillin C) foi o ácido fenólico que teve maior concentração (PARK et al, 2004).

Os óleos essenciais têm sido empregados no setor farmacêutico devido às suas propriedades antimicrobianas (BURT, 2004). Diversos trabalhos têm buscado avaliar a atividade antimicrobiana utilizando extratos do alecrim do campo.

Os óleos essenciais obtidos de plantas nativas de *B. dracunculifolia* e *B. uncinella*, também conhecido como óleo-de-vassoura, é utilizado na indústria de perfumaria, proporcionando um aroma exótico a diversos perfumes, além de muitos estudos sobre atividades biológicas dessas espécies destacam os efeitos alelopáticos, antioxidante, antimicrobianos, citotóxicos e antiinflamatórios. A 'vassoura' é uma planta arbustiva de ocorrência espontânea no Brasil, assim como nos demais países do Mercosul. A composição do óleo depende da região geográfica e do processo de extração utilizado e a importância comercial está diretamente relacionada com a concentração de compostos oxigenados, destacando o nerolidol e o espatulenol.

Óleos essenciais obtidos dessas duas espécies pelo processo de hidrodestilação foram avaliados pelo método de difusão em disco de papel, em placas de Petri contendo meio de Müller-Hinton, semeadas com suspensões bacterianas previamente ajustadas ao tubo 0,5 da escala de Mac Farland de quatro cepas provenientes da *American Type Culture Collection*: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Os resultados apresentados revelam que ambos os óleos avaliados apresentam atividade antimicrobiana sobre *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* (FERRONATO, et al. 2007a).

Uma característica dos compostos fenólicos das própolis analisadas e da espécie vegetal de *B. dracunculifolia* foi a alta proporção de artepilin C e outros derivados do ácido cinâmico. Com base nas evidências fitoquímicas, *B. dracunculifolia* foi identificada como a principal fonte vegetal das própolis produzidas nos estados de São Paulo e Minas Gerais. Os estados de Minas Gerais e São Paulo possuem somente um tipo majoritário de própolis, indicando assim que poucas são as espécies vegetais fornecedoras de resinas para elaboração de própolis. Pelo grande número de compostos identificados e confirmados pelas técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa com espectrometria de massas, pode-se concluir que a resina da espécie vegetal de *B. dracunculifolia* é a principal fonte de resina para a elaboração das própolis produzidas nesses estados (ALENCAR, et al., 2005).

Canton e Onofre (2010) avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de *B. dracunculifolia* por meio do Método de Difusão em Disco em Ágar Muller-Hinton (MH). Para a obtenção dos extratos triturou-se 30g de material seco em 100 ml de etanol 70%. Em seguida foi concentrado em capela de exaustão, com temperatura ambiente e obtidas duas frações; uma apolar e outra polar. Essas frações foram diluídas em água e Dimetil Sulfoxido (DMSO) obtendo concentrações de 100 a 3,12%. Discos de papel filtro foram saturados com essas concentrações e distribuídos em placas de Petri contendo inóculos de *E. coli* e *S. aureus*. Os resultados demonstraram que ambos os extratos foram capazes de inibir o crescimento microbiano, apresentando uma CIM de 25 e 6,25% para *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente com o extrato polar e de 25% para *S. aureus* com o extrato apolar. A *E. coli* mostrou-se resistente à ação dos componentes do extrato apolar.

Também Ferronato et al. (2007), avaliaram pelo método de difusão em disco de papel, a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *B. dracunculifolia* e *B. uncinella* para quatro cepas

provenientes da *American Type Culture Collection*: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Os resultados revelaram que ambos os óleos avaliados apresentam atividade antimicrobiana sobre *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*.

Ferronato et al. (2007b) estudaram a atividade antibacteriana do óleo essencial produzido pela *B. dracunculifolia* D.C. (*Asteraceae*), frente aos microrganismos cariogênicos *Streptococcus mutans* (ATCC 2575); *S. sobrinus* (ATCC 27607); *S. sanguis* (ATCC 10557) e *Lactobacillus casei* (ATCC 4646). Empregou-se a técnica de Concentração Inibitória Mínima (CIM); sendo que cada linhagem bacteriana foi reativada em caldo *Tryptic Soy Broth*, incubada a 37°C por 24 horas em microaerofilia e semeadas em meio de cultura Ágar Mueller Hintön pela técnica de inundação. Com este trabalho concluíram que o óleo essencial produzido por *B. dracunculifolia* é capaz de inibir o crescimento das cepas bacterianas avaliadas (FERRONATO et al., 2007b).

Paulinelli et al. (2004) analisaram os óleos voláteis em dois espécimens de *B. dracunculifolia* e verificaram que os principais componentes são terpenóides. No primeiro espécimen analisado houve predominância do sesquiterpeno oxigenado, o espatulenol, enquanto no outro espécimen predominou o nerolidol entre os sesquiterpenos oxigenados. Segundo Figueiredo (2006), *B. dracunculifolia* é a principal fonte botânica da própolis verde, sendo esta mais uma evidência de constituintes antibióticos na planta.

A verificação da ação do extrato de óleo essencial de *B. dracunculifolia*, bem como do composto nerolidol contra patógenos de importância à saúde humana pode ser bastante útil seja na produção de fármacos, seja na produção de alimentícios, por exemplo (GELINSKI et al., 2007). A composição do óleo depende da região geográfica e do processo de extração utilizado e a importância comercial está diretamente relacionada com a concentração de compostos oxigenados, destacando o nerolidol e o espatulenol (FERRONATO et al., 2007).

Segundo Gelinski et al. (2007) o óleo essencial do alecrim-do-campo teve ação inibitória sobre as cepas testadas neste estudo: *Proteus* sp., *Staphylococcus* sp., *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. Já as cepas de *Salmonella* sp. e de *S. aureus* ATCC 25923 não sofreram ação inibitória do óleo. O nerolidol testado de forma pura inibiu *L. monocytogenes* e *Staphylococcus* sp. Na forma combinada ao EDTA inibiu *Proteus* sp., e em combinação a lisozima inibiu *S. aureus* ATCC 25923 e *L. monocytogenes*.

Os dados obtidos permitem concluir que embora tenha sido possível verificar ação inibitória do nerolidol isolado ou em combinação e do óleo essencial de *B. dracunculifolia* DC sobre algumas das cepas aqui testadas, há necessidade de um estudo ainda mais abrangente, com outras espécies de micro-organismos Gram positivos e Gram negativos para se estabelecer o potencial antibacteriano de *B. dracunculifolia* DC (GELINSKI et al., 2007b).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção das amostras e preparo do extrato de *B. dracunculifolia*

As amostras do alecrim-do-campo foram adquiridas em quatro pontos de comércio popular (feiras) do Distrito Federal. Suas folhas foram secas em estufa de circulação forçada de ar a temperatura média de 50°C e logo depois foram moídas em moinho mecânico. O triturado foi pesado e acondicionado em sacos plásticos.

Adicionou-se 30g do triturado em 100ml de etanol 80% e foi realizada a mistura/maceração seguido de repouso por 24 horas. A solução foi filtrada em papel de filtro Watmann nº 01 e o extrato hidroalcoólico foi concentrado em uma capela de exaustão durante 96 horas.

O extrato concentrado foi diluído em propilenoglicol nas concentrações 15, 30 e 45% (volume/volume), concentrações de uso no trabalho proposto. Além disso, optou-se por varia os volumes do extrato aplicado nos papéis esterilizados. Foram aplicados volumes de 5, 10 e 15 µl nos discos. Desta forma, avaliou-se 3 concentrações diferentes do extrato e também 3 volumes diferentes aplicados nos discos.

2.2. Testes de sensibilidade bacteriana

A avaliação da sensibilidade bacteriana foi realizada pelo método de difusão em disco, no qual foram utilizados discos de papel Watmann nº 01 com 6 milímetros (mm) de diâmetro em Ágar Muller-Hinton (MH), em metodologia descrita por Vandepitte et. al, 1994.

Linhagens bacterianas

Para as análises foram utilizadas cepas de bactérias gram negativas: *Escherichia coli* (ATCC E003), *Serratia marcescens* (ATCC2573) e *Pseudomonas aeruginosas* (ATCC27853). As bactérias gram positivas testadas foram: *Streptococcus pyogenes* (ATCC17405131), *Bacillus subtilis* (ATCC B005) e *Staphylococcus aureus* (ATCCBAA077). Para controle foi utilizado disco de clorafenicol a 30mcg.

A concentração de bactérias que equivalem a 0,5 na escala de McFarland foram semeadas em Placas de Petri com o auxílio de alça de Drigalski. Após a semeadura das bactérias, cada placa recebeu três discos contendo os extratos avaliados, com as suas devidas concentrações. Após a inoculação, as placas foram incubadas por 24 horas a uma temperatura de 37°C.

Estabelecimento da concentração inibitória mínima

Para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) os extratos vegetais foram diluídos para se obter concentrações decrescentes de 15, 10 e 5% (v/v%). O meio de cultura destes testes preliminares também foi o ágar Muller Hinton. A CIM foi considerada como a menor concentração dos extratos testados capazes de inibir o desenvolvimento bacteriano.

Testes de difusão em disco

Cada solução contendo as bactérias foram semeadas em ágar MH em diferentes placas de petri. Para cada bactéria testada, foram utilizadas três placas. Na primeira placa, após o semeio, foram colocados cinco discos: um embebido com 1µl do extrato, outro com 5µl e o terceiro com 10µl do extrato a 15%, além do disco com um antibiótico de amplo espectro (cloranfenicol) e um disco embebido apenas em propilenoglicol (sem extrato).

Nas outras duas placas também foram colocados cinco discos, empregando os mesmos volumes, mas do extrato a 30% e também a 45%, além dos discos controles. Os passos anteriormente descritos foram repetidos para as demais cepas bacterianas testadas.

Todos os testes foram realizados em triplicata, de maneira que os halos de inibição medidos são os resultados da média aritmética simples das 3 leituras. Os diâmetros dos halos de inibição foram interpretados seguindo os parâmetros postulados pelo *Committee for Clinical Laboratory Standards International – CLSI – (2000)*.

2.3. Análise estatística

Para avaliar estatisticamente as diferenças entre as resistências das bactérias ao extrato e dos antibióticos nas diversas concentrações de tratamento nas amostras, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) a dois fatores, com o post hoc de Tukey. Assim, para esta avaliação, foi selecionada a opção General Linear Model do pacote estatístico SPSS versão 17.0.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 abaixo encontram-se os resultados referentes aos testes de sensibilidade bacteriana *in vitro* do extrato bruto da *B. dracunculifolia*, considerando três concentrações e três volumes do extrato por disco. Os resultados referem-se à média aritmética dos testes que foram realizados em triplicatas.

Tabela 1 – Resultados relativos aos halos de inibição em milímetros para testes de sensibilidade bacteriana ao extrato de *Bracharis dracunculifolia* em 3 diferentes concentrações e em 3 diferentes volumes e discos controle contendo clo-ranfenicol 30µg e propilenoglicol apenas (sem antibiótico).

Bactérias	Concentrações (%) - Volumes (µl) por disco									Controles	
	15 - 1	15 - 5	15 - 10	30 - 1	30 - 5	30 - 10	45 - 1	45 - 5	45 - 10	CLO	
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,5	11,8	13,7	14,1	15,5	16,0	14,8	16,4	16,7	25,2	R
<i>Streptococcus pyogenes</i>	10,3	12,2	12,9	12,5	12,8	13,5	13,3	14,5	14,6	28,3	R
<i>Bacillus subtilis</i>	12,5	13,4	15,1	11,8	12,8	15,2	11,5	13,2	15,9	25,5	R
<i>Escherichia coli</i>	R	R	R	R	14,5	19,1	19,6	19,8	21,3	21,8	R
<i>Serratia marcescens</i>	R	R	8,0	R	11,1	11,5	12,0	12,5	13,1	12,7	R
<i>Pseudomonas aeruginosas</i>	R	R	7,2	R	9,4	12,0	8,1	12,2	12,8	17,5	R

Ao iniciar este trabalho, surgiu a dúvida a respeito do volume de extrato que se utiliza em cada disco de papel, a fim de embebê-lo com quantidade suficiente da substância que se deseja estudar e que assim possa se difundir no ágar de forma satisfatória. A maioria dos trabalhos utilizados como fonte bibliográfica não comentavam sobre este parâmetro técnico, com exceção ao de Ferronato et al. (2007a). Com esta dúvida, o grupo pesquisador resolveu avaliar, além das três concentrações, três volumes diferentes para cada uma dessas três concentrações.

Na fase de pesquisa bibliográfica também, foi verificado que boa parte dos trabalhos utilizados como referência e comparação empregaram duas frações do extrato de *B. dracunculifolia*: polar e apolar. O presente estudo, porém, não fez essa distinção, uma vez que o extrato hidroalcolico total, sem a separação em solvente orgânico. Embora haja diferenças nas atividades bacterianas frente aos extratos de, essas ainda não foram completamente esclarecidas (OHNO et al., 2003).

Também por meio da revisão bibliográfica, observou-se que os extratos são menos concentrados do que os óleos (SILVA, 2010). Ainda assim, em razão da dificuldade de se obter os óleos do Alecrim-do-campo, o grupo optou por realizar o estudo somente com o extrato bruto, cuja obtenção é simples e dependente de equipamentos existentes na unidade Faculdade Anhanguera de Brasília.

O extrato bruto da *B. dracunculifolia* demonstra a presença de substâncias das classes dos flavonóides, fenóis e taninos, as quais possuem atividades antimicrobianas. As substâncias majoritariamente encontradas no seu extrato bruto são: neurolidol, germacreno e limoleno (SILVA, 2010).

A Tabela 1 demonstra que as espécies gram positivas, neste trabalho, mostraram-se mais sensíveis no geral, do que às gram-negativas. A sensibilidade ligeiramente maior de Gram positivas pode ser devido às diferenças na estrutura em relação às Gram negativas, principalmente de parede bacteriana, que pode ter dificultado a ação dos produtos antimicrobianos testados.

Ao verificar os resultados obtidos, nota-se que a CIM para a maioria das espécies estudadas ocorreu na concentração 15% (volume de 1 microlitros), à exceção das bactérias *S. aureus* e *S. pyogenes* que demonstraram sensibilidade a todas as concentrações/volumes testados.

Abreu e Onofre (2010) verificaram que a bactéria *S. aureus* apresentou CIM de 12,5% para a fração polar do extrato, corroborando com o encontrado neste trabalho, uma vez que esta espécie apresentou sensibilidade ao extrato na menor concentração - 15% - e também no menor volume - 1 microlitro -. Em uso veterinário, no combate à mastite bovina, o extrato hidroalcoólico do Alecrim-do-campo também demonstrou atividade antibacteriana contra *S. aureus* em níveis satisfatórios (Diaz et al, 2010). Resultados satisfatórios quanto à inibição do crescimento bacteriano foram observados por Ferronato et al (2007b) no uso do óleo essencial do Alecrim-do-campo contra bactérias cariogênicas *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguis* e *Lactobacillus casei* em testes *in vitro*.

Leitão et al (2004) afirmam que os extratos de *B. dracunculifolia* produziram efeito bacteriostático em culturas de *S. mutans* e os resultados demonstram que lavar folha Bd tem efeitos inibitórios semelhantes sobre os fatores cariogênicos de *S. mutans* e permitem sugerir que as folhas Bd podem ser fonte potencial de produtos farmacêuticos utilizados para este fim.

Quanto à ação do extrato contra as bactérias Gram negativas, nota-se que houve sensibilidade a partir da menor concentração (15%) e, porém com maior volume (10 microlitros). Curiosamente, na concentração de 30% e volume de 1 microlitro, houve resistência das três espécies bacterianas Gram negativas (nas 3 repetições). Isso pode ter ocorrido em função do volume ser insuficiente para a difusão, havendo baixa quantidade de extrato difundido no ágar nesta concentração de forma a não inibir o crescimento bacteriano. O mesmo ocorreu no trabalho de Ferronato et al, 2007a para a espécie *P. aeruginosa* quando testada a sua sensibilidade frente aos volumes de 1, 3 e 5 microlitros do óleo essencial da *B. dracunculifolia*, havendo sensibilidade apenas quando foi aplicado 8 ou mais microlitros.

Canton e Onofre (2010) apresentaram resultados sobre a ação do extrato essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC. sobre atividade dos antibióticos inibidores da síntese da parede celular, utilizando para isso a bactéria Gram negativa *Escherichia coli*, sugeriram que a utilização do que o extrato hidroalcoólico (HA) a 50%, provocou sinergismo na atividade dos antibióticos.

Uma condição não avaliada neste estudo e trazida à tona durante a confecção do trabalho foi a questão da sazonalidade, ou seja, a época da colheita das folhas da planta. A atividade antimicrobiana pode apresentar variação em função da sazonalidade, conforme verificou Figueiredo-Rinhel et al, (2006) em estudos da ação neutrofílica estimulada. Porém, não há como precisar o período de colheita das amostras compradas no comércio, mesmo

após contato telefônico com as empresas que embalam os respectivos produtos. Ainda assim, tal fato permite inferir que as diferenças de CIM observadas podem ser atribuídas à composição química dos antimicrobianos vegetais testados. A justificativa decorre dos vários aspectos edafoclimáticos (época de colheita, horário, localidade, entre outros fatores) que alteram a produção dos compostos ativos nas plantas. Esta afirmação encontra suporte em estudo de Gobbo-Netto e Lopes (2007), que relataram a influência dos fatores ambientais na produção dos compostos secundários das plantas, resultando em produtos vegetais com diferentes composições químicas e com isto capacidades distintas para inibição de crescimento microbiano.

De toda forma, o Alecrim-do-campo demonstrou boa atividade antimicrobiana. E justamente, por isso, que esta planta passa a ter interesse comercial, uma vez que fornece material às abelhas na produção da própolis verde, composto que apresenta inúmeras propriedades terapêuticas e biológicas, destacando a atividade antioxidante (FIGUEIREDO-RINHEL et al., 2012), antimicrobiana, antitumoral e antiinflamatória, prevenindo o aparecimento de doenças (MARCHESAN et al., 2006).

Ainda que seja considerada uma planta medicinal ou, no caso de um medicamento feito à base de seus extratos ou ainda o próprio própolis verde, sabe-se, por outro lado, que há reações de potencialização dos efeitos antibióticos (sinergismo) ou ainda diminuindo (antagonismo) efeitos de diversos antimicrobianos sintéticos (CANTON; ONOFRE, 2010). Portanto, ao se confirmar neste trabalho a atividade de inibição de crescimento de bactérias *in vitro*, é importante salientar que a planta estudada, quando usada de maneira concomitante à antibióticos sintéticos pode causar aumento ou diminuição da atividade destes, influenciando na efetividade da terapêutica. Fica claro, dessa forma, que não se trata de apenas uma substância 'inofensiva' ou 'sem contra-indicações' como são popularmente considerados os tratamentos com plantas (fitoterapia ou planta medicinal).

4. CONCLUSÕES

Observou-se ação antimicrobiana, e esta ação variou conforme a espécie de bactéria testada, uma vez que a sensibilidade das bactérias Gram-positivas fossem maiores que as Gram-negativas. A sensibilidade maior de Gram positivas pode ser, conforme mencionado acima pela parede bacteriana. Esta pode ser um obstáculo para ação do princípio ativo do medicamento e, no caso deste trabalho, da ação do extrato de alecrim. Mesmo com a presença da parede o trabalho mostra certa eficiência no uso dessa planta como agente antimicrobiano.

É importante ressaltar que este trabalho teve como objetivo verificar a ação antimicrobiana do extrato de alecrim, confrontando com a literatura os resultados obtidos. Não foi quantificado o parâmetro de toxicidade dessa planta e como ocorre com antibióticos,

o uso inconsequente desta pode trazer consequências indesejáveis, quanto consumida no combate às infecções. Assim espera-se que mais trabalhos sejam feitos aprofundando o assunto no sentido de se determinar os parâmetros de resistências das cepas aos extratos consumidos popularmente.

REFERÊNCIAS

- ABREU, P.A.P.; ONOFRE, S.B. Atividade antimicrobiana dos extratos de *Baccharis dracunculifolia* D. C. (Asteraceae). *Revista de Saúde e Biologia*, v.5, n.2, p.1-6, jul./dez, 2010.
- ACKERMANN, T. Fast chromatography study of propolis crudes. **Food Chemistry**, 42 (2), 135-138, 1991.
- ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L.; PAREDES-GUZMAN, J. Chemical composition of *Baccharis dracunculifolia*, the botanical source of propolis from the states of São Paulo and Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, 2005, 35 (4), 909-915.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC international**. 17. ed., Washington, 2002.
- BOLDT, P.E. *Baccharis* (Asteraceae): a review of its taxonomy, phytochemistry,
- BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. **Food and Chemical Toxicology**, 36(4) 347-363, 1998.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. **International Journal of Food Microbiology**, 3: 233-253, 2004.
- 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**, Curitiba, v. 20, n. 3, 2010.
- CUNHA, I. B.; SALOMAO, K.; SHIMIZU, M.; BANKOVA V. S.; CUSTODIO, A.; CASTRO, S. L. Antitrypanosomal activity of Brazilian Propolis from *Apis mellifera*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, 52 (5), 602-604, 2004.
- DIAZ, M. A. N. et al. Screening of medicinal plants for antibacterial activities on *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 20, n. 5, Nov. 2010.
- DUARTE, S.; KOO, H.; BOWEN, W. H.; HAYACIBARA, M. F.; CURY, J. A.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P. L. Effect of a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and adherence of mutans streptococci. **Biology Pharmaceutical Bulletin**, 26 (4), 527 -531, 2003.
- ESPIRITO-SANTO, M. M.; FERNANDES, G. W. Abundance of *Neopelma baccharidis* (Homoptera: Psyllidae) galls on the dioecious shrub *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae). **Environmental Entomology**, 27, 870-876, 1998.
- EVANGELISTA, José. **Tecnologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2001.
- FABIANE, K. C. et al. Physicochemical characteristics of the essential oils of *Baccharis dracunculifolia* and *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 2, 2008.
- FERRONATO, R. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17(2): 224-230, Abr./Jun. 2007a.
- FERRONATO, R. et al. Efeitos do óleo essencial produzido por *Baccharis dracunculifolia* D. C. (Asteraceae) sobre bactérias cariogênicas. **Arquivos de Ciências da Saúde Unipar**, Umuarama, v.11, n.1, p.15-18, 2007b.
- FIGUEIREDO-RINHEL, A.S.G. ; AMBROSIO, L. M. C. S. ; GREGORIO, L. E. ; BASTOS, J. K. ;

- AZZOLINI, A.C.S. ; LUCISANO-VALIM, Y. M. . Estudo do efeito de *Baccharis dracunculifolia* sobre o metabolismo oxidativo de neutrófilos e influência de fatores sazonais sobre esta atividade. In: 14 **Simpósio Internacional de Iniciação Científica - SIICUSP**, Ribeirão Preto. Resumos - CD ROM. São Paulo, 2006. v. 1. p. 462-462, 2006.
- FIGUEIREDO-RINHEL, A.S.G.; AZZOLINI, A.C.S.; BASTOS, J. K.; LUCISANO-VALIM, Y. M. *Baccharis dracunculifolia* extract modulates reactive oxygen species production without modification of the main effector functions of human neutrophils. In: XXXVII Congress of the Brazilian Society for Immunology, 2012, Campos do Jordão - SP. **Immunopharmacology**, 2012.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. São Paulo: Artmed, 2002.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Avaliação da contaminação por *Staphylococcus Aureus* e *Saumonella* spp., de maionese de batata comercializada em Londrina,PR. **Microbiologia Dos Alimentos**. Atheneu, 1996.
- FRANCO, R. M.; ALMEIDA, L. E. F. Avaliação microbiológica de queijo ralado, tipo parmesão, comercializado em Niterói, RJ. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 06, n. 21, p. 33-36, 1992.
- GELINSKI, J.L. et al. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) e de seu composto ativo nerolidol em combinação ao EDTA ou lisozima. **Evidência**, Joaçaba, v. 7, n. 2, p. 131-144, jul./dez. 2007.
- GHISALBERTI, E. L. Propolis: a review. *Bee World*, **Cardiff**, 60 (2), 59-84, 1989.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas Medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, Vol. 30, Nº 2, 374-381, 2007.
- ISHIKAWA, M.; KANNO, S.; ASOU, K.; OGINO, M.; TADANO, T. Inhibition of growth and induction of apoptosis in human cancer cell lines by Propolis. **Journal of Pharmacological Sciences**, 94, 129-129, 2004.
- LANZA, M et al. Avaliação da presença de *Staphylococcus coagulase positiva* em paleta suína fermentada. **Revista de Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 17, n. 107, p. 63-69, 2003.
- LEITÃO DP et all. Comparative evaluation of in-vitro effects of Brazilian green propolis and *Baccharis dracunculifolia* extracts on cariogenic factors of *Streptococcus mutans*. **Biology Pharmaceutical Bulletin**, Nov; 27(11):1834-9, 2004.
- LOURENÇO, L. F.H. et al. Análise microbiológica do requeijão marajoara elaborado no norte do Brasil. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 96, p.56-79, 2002.
- MANSUNARI, A. , TAVARES, L.; Aplicação de estudos de QSAR- 2D em derivados 5 nitro 2-tiofilidêmicos com atividade microbiana frente a *staphylococcus aureus* multiresistente (MRSA). **Revista brasileira de ciências farmacêuticas**, v42 n-2, p 42-45 abr/jun, 2006.
- MARCHESAN, E. D.; FERRONATTO, R.; BEDNARSKI, F.; ALENCAR, S. M.; ONOFRE, S. B. Ação dos óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae) sobre a atividade hialuronidase. **Arquivos de Ciências da Saúde Unipar**, Umuarama, v. 10, n. 2, p. 63-66, mai./ago. 2006.
- MARCUCCI, M. C.; FERRERES, F.; GARCIA, C.; BANKOVA, V. S.; DE CASTRO, S. L.; DANTAS, A. P.; VALENTE, P. H.; PAULINO, N. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, 74 (2), 105-112, 2001.
- MARQUES, M.; MARTINS, R; NETO, A. Ocorrência de *staphylococcus coagulase positiva* em leite e queijo: Identificação perfil enzimático e biotipagem. **Higiene Alimentar**, v21-n140, 2006.
- MONTPIED, P.; BOCK, F.; RONDOUIN, G.; NIEL, G.; BRIANT, L.; COURSEAU, A.; BOCKAERT, J. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents inflammatory stress in organotypic hippocampal slice cultures. **Molecular Brain Research**, 115 (2), 111-120, 2003.
- MURRAY, P.R. et al. **Microbiologia médica**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- OHNO, T. et al. Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 8: 207-215. 2003.

OLIVEIRA, et al. Avaliação da tolerância à vancomicina em 395 hos´pitalares de sthaphylococcus aureus resistentes à oxacilina. **Jornal brasileiro de patologia** v37-n4 p35-39, 2001.

PARK, Y. K.; PAREDES-GUZMÁN, J.; AGUIAR C. L.; ALENCAR, S.; M; FUJIWARA, F. Y. Chemical Constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the Main Botanical Origin of Southeastern Brazilian Propolis. **Agricultural and Food Chemistry**, 52, 1100-1103, 2004.

SILVA, N. C. C. **Estudo comparativo da ação antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais e sinergismo com drogas antimicrobianas**. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, 2010.

SILVA, W.; GANDRA, E. *Estafilococos coagulase positiva*: Patógenos de importância em alimentos. **Higiene Alimentar**, v18-n122, 2004.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

VANDEPITTE, J.; ENGBAEK, K.; PIOT, P.E.; HEUCK, C.C. **Procedimentos laboratoriais em bacteriologia clínica**. OMS. São Paulo: Editora Santos, 1994.