

ACÇÃO ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *CASEARIA SYLVESTRIS* SWARTZ

Antimicrobial action of leaves essential oil of *Casearia sylvestris* swartz

Leidiane Falcão¹; Silvane Souza Roman¹; Sônia Beatris Balvedi Zakrzewski¹; Albanin Aparecida Mielniczki Pereira¹; Natalia Paroul¹; Rogério Luis Cansian¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. Erechim, RS

Data do recebimento: 21/10/2016 – Data do aceite: 14/12/2016

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi o de verificar efeito antimicrobiano do óleo essencial de chá-de-bugre (*Casearia sylvestris*) sobre bactérias Gram-positivas (*Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus mutans*) e Gram-negativas (*Aeromonas* sp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Salmonella choleraesuis*). O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação. A atividade antimicrobiana foi determinada por difusão em placas com diferentes doses (5, 15 e 30 µL) e determinação da concentração inibitória mínima por densidade ótica (490 nm). As menores doses testadas não apresentaram atividade para a maioria das bactérias avaliadas. *Micrococcus luteus* e *Staphylococcus aureus* apresentaram maior sensibilidade à concentração de 30 µL, gerando um halo de 14 mm de diâmetro. Apenas *Salmonella choleraesuis*, *Proteus vulgaris* e *Aeromonas* sp. não apresentaram sensibilidade ao extrato com 30 µL. Na determinação da concentração inibitória mínima (CIM), observou-se que a atividade antimicrobiana foi mais significativa nas bactérias Gram-positivas (entre 5 e 10 µL/mL) do que em Gram-negativas (entre 10 e 25 µL/mL). Conclui-se que o óleo essencial de *C. sylvestris* possui potencial antimicrobiano mais eficiente contra cepas de bactérias Gram-positivas.

Palavras-chave: Resistência. Bactérias. Potencial antimicrobiano.

ABSTRACT: The aim of this study was to assess the antimicrobial effect of essential oil from *Casearia sylvestris* on Gram-positive (*Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Streptococcus mutans*) and Gram-negative (*Aeromonas* sp., *Escherichia*

coli, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Salmonella choleraesuis*) bacteria. The essential oil was obtained by hydrodistillation. The antibacterial activity was assessed by plate diffusion of different dosage (5, 15 and 30 μL) and Minimal Inhibitory Concentration determination by optical density (490 nm). The lowest doses tested showed no activity for most of the evaluated bacteria. *Micrococcus luteus* and *Staphylococcus aureus* showed increased sensitivity to concentrations of 30 μL generating a halo of 14 mm diameter. Only *Salmonella choleraesuis*, *Proteus vulgaris* and *Aeromonas* sp., showed no sensitivity to the extract with 30 μL . In determining the minimum inhibitory concentration (MIC) it was noted that the antimicrobial activity was most significant in Gram-positive (between 5 and 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$) than in Gram-negative bacteria (between 10 and 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$). It is concluded that *C. sylvestris* essential oil has a more efficient antimicrobial potential against strains of Gram-positive bacteria.

Keywords: Resistance. Bacteria. Antimicrobial potential.

Introdução

Desde os primórdios, o homem percebeu o efeito curativo de plantas medicinais, notando que a forma pela qual o vegetal medicinal era administrado (pó, chá, banho, entre outros) proporcionava a recuperação da saúde do indivíduo (MATOS, 1999). Plantas medicinais que são utilizadas há milhares de anos servem de base para estudos na produção de novos fármacos (MACEDO et al., 2002). Em nosso país, a utilização de plantas no tratamento de doenças apresenta fundamental influência das culturas indígena, africana e europeia, e a base da formação da medicina popular é hoje retomada pela medicina natural, que aproveita seu conhecimento prático, dando-lhe caráter científico na tentativa de restituir a saúde ao ser humano, de forma natural (DE-LA-CRUZ-MOTA; GUARIM NETO, 1996; BORGES; CARVALHO, 2001).

A resistência de micro-organismos a múltiplas drogas têm aumentado nos últimos anos devido ao uso indiscriminado de antibióticos, gerando a necessidade de novas fórmulas para fármacos em geral. Extratos e óleos essenciais vegetais podem ser uma alternativa ao com-

bate a micro-organismos, pois são fonte de vasta diversidade molecular com diferentes mecanismos antimicrobianos. Assim sendo, a procura por propriedades antimicrobianas em extratos de plantas tem sido intensificada e incentivada (YAP et al., 2014).

Óleos essenciais que são extraídos de plantas medicinais e seus componentes são conhecidos por serem ativos contra uma ampla variedade de micro-organismos. A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é atribuída a um número pequeno de terpenóides e compostos fenólicos que, também, na forma pura têm mostrado atividade antifúngica e antibacteriana (PERRICONE et al., 2015).

A espécie alvo deste estudo é *Casearia sylvestris* Swartz (Salicaceae) popularmente conhecida como chá-de-bugre, a qual apresenta propriedades como antisséptica, anestésica tópica para o tratamento de lesões de pele (MATTOS, 2007), efeito citotóxico contra células tumorais (OBERLIES et al., 2002; MAISTRO et al., 2003), e como agente antiofídica frente ao veneno de cobras do gênero *Bothrops*, em que promove a neutralização da atividade hemorrágica, além de atividade antioxidante (BORGES et al., 2000;

BORGES et al., 2001), anti-úlceras gástrica e anti-inflamatória (ESTEVES et al. 2005; SASSIOTO et al. 2004).

A *C. sylvestris* apresenta-se distribuída em quase todo território nacional. Embora não seja restrita apenas ao território brasileiro, a mesma é uma planta pioneira rústica e produtora de grande quantidade de sementes, sendo bastante comum em beira de estradas. Apresenta um porte de dois a mais de dez metros de altura em média. Ela aparece nas mais variadas formações florestais, com ênfase no sul do país, especialmente nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (LORENZI, 1992).

Nesse sentido, este trabalho teve por objetivos verificar se o óleo essencial de *C. sylvestris* possui efeito antimicrobiano contra cepas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, através da difusão em placas, e posteriormente, verificação da concentração inibitória mínima.

Material e Métodos

Obtenção dos Extratos

Foram utilizadas folhas de *Casearia sylvestris*, coletadas na área urbana da cidade de Erechim, em pontos aleatórios da cidade, no período do final do inverno até o início da primavera, posteriormente, foram secas à temperatura ambiente em estufa de circulação de ar até peso constante. O óleo essencial foi extraído pelo método de hidrodestilação em Clevenger. O tempo para extração do óleo foi de três horas a partir do início da ebulição (até não ocorrer mais extração).

Teste da Atividade Antibacteriana por Difusão em Placas

Os micro-organismos submetidos à avaliação da atividade antimicrobiana foram

bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Proteus vulgaris* e *Aeromonas* sp.), e Gram-positivas (*Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus mutans*) pertencentes ao banco de cepas do Laboratório de Biotecnologia da URI e geralmente associados a infecções transmitidas por alimentos.

Os experimentos de difusão em placas, utilizando as diferentes bactérias, foram realizados em meio Agar Mueller - Hinton (Merck) com discos de papel Watmann nº 3, com 7 mm de diâmetro. Estes experimentos foram realizados em triplicata, sendo que cada placa continha um disco de controle negativo, um disco de controle positivo com o antibiótico selecionado e um disco com uma determinada concentração de óleo essencial (05, 15 ou 30 µL). As placas foram incubadas a 35°C por 48 horas, e posteriormente, medido o halo de inibição de crescimento, considerando o diâmetro total do halo em mm (CANSIAN et al., 2010).

Determinação da Concentração Inibitória Mínima

Sobre as bactérias com sensibilidade ao óleo essencial de *C. sylvestris*, foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) pela avaliação do crescimento microbiano em meio líquido, contendo diferentes concentrações do óleo, avaliando-se a densidade óptica da cultura em espectrofotômetro a 490 nm (CANSIAN et al., 2010).

Foram inoculados em microtubos com 1 mL de caldo Luria Bertani - LB (10 g/L de triptona, 5 g/L de extrato de levedura e 5 g/L de NaCl) acrescido de 1% do emulsificante dimetilsulfóxido (DMSO) e contendo diferentes concentrações do óleo essencial (MALOZ, 2005). Posteriormente ao processo de inoculação, os microtubos foram incubados

sob agitação eletromagnética (60 Hz), por 24 horas à temperatura de 32 °C.

Nos períodos de incubação de 0 e 24 horas, foram transferidas alíquotas de 100 µL da cultura bacteriana para microplacas de fundo chato, realizando-se três repetições de leitura para cada concentração do óleo estudado. Com o objetivo de avaliar o crescimento bacteriano (densidade ótica) para determinar a CIM do óleo essencial sobre determinada bactéria, submeteu-se a leitura da microplaca através do leitor automático de microplacas (Marca Bio-Tec Instruments Inc., modelo EL800), acoplado em computador com programa Kcjunior, com comprimento de onda pré-selecionado de 490 nm. As concentrações de óleo essencial, testadas, no experimento para o conjunto dos sete micro-organismos selecionados, foram 50, 25, 10, 7,5, 5,0 e 2,5 µL, respectivamente, e o microtubo controle, sem óleo essencial. A inibição do crescimento foi determinada pela diferença entre as leituras realizadas em 24 horas pela leitura realizada em 0 horas. Os valores médios de densidade ótica foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para determinar a CIM. (programa SPSS student version).

Resultados e Discussão

Difusão em Placas

Óleos essenciais e seus componentes são conhecidos por serem ativos contra uma ampla variedade de micro-organismos, incluindo bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (HELANDER et al., 1998). A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é atribuída a um número pequeno de terpenoides e compostos fenólicos que, também, na forma pura têm mostrado atividade antifúngica e antibacteriana (HELANDER et al., 1998). Investigações sobre atividade anti-

microbiana, modo de ação e uso potencial de óleos voláteis de plantas têm recebido novo impulso (DORMAN; DEANS, 2000). Tendo em vista que as propriedades físico-químicas do óleo essencial é que irão determinar sua viabilidade como antimicrobiano, tornando sua avaliação particularmente difícil de ser padronizada, chega-se à conclusão de que a difusão em placas ainda é a técnica mais comum para avaliação de antibacterianos e antifúngicos de óleos essenciais porque é de fácil execução e requer pequenas quantidades de amostra (KATZUNG, 2003).

A Tabela I apresenta os resultados de atividade antimicrobiana do óleo essencial de *C. sylvestris* sobre diferentes bactérias Gram positivas e Gram negativas.

Sete das dez cepas testadas (70%) foram sensíveis ao óleo essencial de *C. sylvestris*. A maior atividade antimicrobiana do óleo essencial sobre as bactérias testadas foi observada sobre as bactérias *Micrococcus luteus* e *Staphylococcus aureus* (14 mm) em 30 µL. A menor atividade foi constatada sobre as bactérias *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli* com a formação de halo de 11 mm em 30 µL, e *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus epidermidis* com formação de halo de 12 mm em 30 µL, já *Aeromonas* sp., *Proteus vulgaris* e *Salmonella choleraesuis* não apresentaram nenhum halo de inibição (Tabela I).

Para a maioria das bactérias avaliadas, não observou-se variação significativa no diâmetro dos halos com o aumento da dosagem do óleo essencial. Considerando a média de diâmetro dos halos, observa-se um maior poder antimicrobiano sobre Gram-positivas em relação a Gram-negativas.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima

A concentração inibitória mínima (CIM) é citada por muitas pesquisas como uma

Tabela I - Halos médios (em mm) obtidos pelo método de difusão de placas do óleo essencial de chá de bugre (*Casearia sylvestris*) sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Bactérias	Diâmetro Total dos Halos (mm)*		
	05 µL	15 µL	30 µL
Gram-positivas			
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 19433)	--	--	11 ^b ± 0,9
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 10240)	12 ± 0,7	14 ± 0,8	14 ^a ± 1,1
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	--	--	14 ^a ± 0,9
<i>S. epidermidis</i> (ATCC 12228)	--	--	12 ^b ± 0,7
<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 5175)	--	--	11 ^b ± 0,8
Média	2,4	2,8	12,4 ± 1,5
Gram-negativas			
<i>Aeromonas</i> sp. **	--	--	--
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	--	--	11 ^b ± 0,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 13883)	--	--	12 ^b ± 1,0
<i>Proteus vulgaris</i> (ATCC 25933)	--	--	--
<i>Salmonella choleraesuis</i> (ATCC 10708)	--	--	--
Média			11,5 ± 0,7

*Médias seguidas de mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

ATCC: American Type Culture Collection – (U.S.A.);

** Obtida a partir do Instituto Biológico – Campinas, SP.

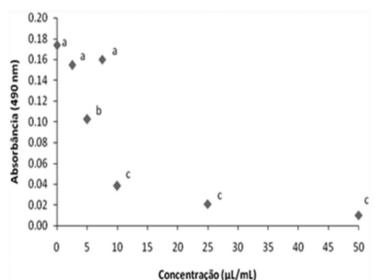
-- Sem ocorrência de halo de inibição.

medida de performance dos óleos essenciais (BURT, 2004). A determinação da CIM envolve um teste semi-quantitativo que dá um valor aproximado da menor concentração necessária para prevenir o crescimento bacteriano (LAMBERT e PEARSON, 2000). É qualitativo no sentido de que a CIM é dependente de muitos fatores, tais como temperatura de incubação, tamanho do inóculo e inóculo teste. Ainda, muitos desses fatores não têm sido ativamente pesquisados, mas o método

tem evoluído para reduzir suas influências em uma tentativa de racionalizar comparações entre os inibidores (LAMBERT, 2001).

As CIM foram avaliadas a partir da densidade ótica com comprimento de onda de 490 nm em microplacas. As análises foram realizadas através de testes com concentrações que variam de 2,5 a 50 µL/mL somente com as bactérias que mostraram-se sensíveis na avaliação da atividade antibacteriana por difusão em placas (Tabela I). De forma representativa, os resultados obtidos a partir das diferenças de absorvância nas diferentes concentrações testadas do óleo essencial de *C. sylvestris* sobre *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus epidermidis* estão apresentados na Figura 1.

A



B

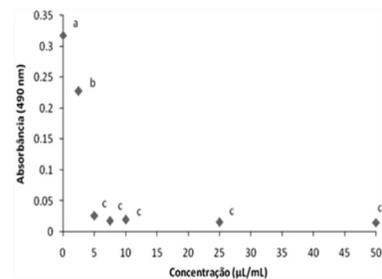


Figura 1: Determinação da concentração inibitória mínima do óleo essencial de *Casearia sylvestris* sobre *Klebsiella pneumoniae* (A) e *Staphylococcus epidermidis* (B).

As menores concentrações capazes de inibir o crescimento bacteriano (sem diferença significativa em relação à maior concentração testada) foram de 10 e 5 µL para *Klebsiella*

pneumoniae e *Staphylococcus epidermidis*, respectivamente.

Na avaliação dos resultados das CIM (Tabela II), observa-se que, em média, as bactérias Gram-positivas apresentaram uma menor CIM (7,0 µL/mL) em relação às bactérias Gram-negativas (17,5 µL/mL), corroborando com os resultados obtidos na técnica de difusão em placas (Tabela I). Normalmente, as bactérias Gram-positivas apresentam uma maior sensibilidade quando expostas aos óleos essenciais *in vitro* que as bactérias Gram-negativas, pois as Gram-negativas possuem parede bacteriana diferenciada (PROBST, 2012).

As CIM apresentaram correlação com os diâmetros dos halos para *M. luteus*, e parcialmente, para *S. aureus* e *S. epidermidis*, onde os maiores halos correspondem à baixas concentrações inibitórias mínimas. Entretanto, principalmente em bactérias Gram-negativas, não se observa esta correlação. A menor CIM encontrada foi de 5µL/mL para *M. luteus* e *S. epidermidis* e a maior CIM foi para *E. coli* (25 µL/mL).

Esses resultados demonstram que o método de avaliação antimicrobiana por difusão em placas pode ser utilizado como método de avaliação prévio, por ser reconhecido e determinar a sensibilidade de muitos micro-organismos a determinados óleos essenciais, produzindo resultados semi-quantitativos, ainda que de acordo com alguns autores só qualitativos e nem sempre reprodutíveis (JANSSEN et al., 1987). No entanto, ainda é a técnica mais comum para a avaliação de antibacterianos e antifúngicos de óleos essenciais, por ser de fácil execução e requerer pequenas quantidades de amostra (JANSSEN et al., 1987; KALEMBA; KUNICA, 2003; KATZUNG, 2003).

Métodos de atividade antimicrobiana (difusão e diluição) não são necessariamente comparáveis. Isso porque o método de dilui-

Tabela II - Concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de *Casearia sylvestris*.

Bactérias Gram-positivas	CIM (µL/mL)
<i>Enterococcus faecalis</i>	7,5 ^a ± 0,1
<i>Micrococcus luteus</i>	5,0 ^d ± 0,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,5 ^a ± 0,1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5,0 ^d ± 0,1
<i>Streptococcus mutans</i>	10 ^b ± 0,1
Média	7,5
Bactérias Gram-negativas	
<i>Escherichia coli</i>	25 ^a ± 0,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10 ^b ± 0,2
Média	17,5

*Médias seguidas de mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

ção mostra-se ser o que melhor disponibiliza dados quantitativos, enquanto a difusão em placas se constitui em um método qualitativo (NASCIMENTO et al., 2007). Os resultados obtidos por cada um desses métodos podem diferir devido a fatores que podem interferir nos valores da CIM obtidos através de métodos de difusão e diluição como: condições de cultivo (tempo de incubação, temperatura, taxa de oxigênio), meio de cultura, concentração das substâncias testadas dispersão e emulsificação dos agentes utilizados na emulsão óleo-água (RÍOS e RECIO, 2005).

A ação antimicrobiana dos componentes dos óleos essenciais pode ocorrer de três formas: pela interferência na dupla camada fosfolipídica da parede celular; pelo aumento da permeabilidade e perda dos constituintes celulares e por alteração de uma variedade de sistemas enzimáticos, incluindo aqueles envolvidos na produção de energia celular e síntese de componentes estruturais ou por inativação e destruição do material genético (KIM et al., 1995; SVOBODA; DEANS, 1995; BARATTA et al., 1998; COWAN, 1999; COX et al., 2000; KALEMBA; KUNICKA, 2003; BAGAMBOULA et al., 2004; DELAMARE et al., 2007).

Conclusões

Conclui-se que o óleo essencial de *Casearia sylvestris* apresentou atividade antimicrobiana perante 70% das bactérias testadas,

sendo a atividade antibacteriana maior sobre bactérias Gram-positivas em relação à Gram-negativas. Houve relação parcial entre a atividade antibacteriana (obtida pelo método de difusão em placas) e a determinação da concentração inibitória mínima (CIM).

REFERÊNCIAS

- BAGAMBOULA, C.F.; UYTTENDAELE, M.; CANDAN, F.; DAFERERA, D.; UNLI, G. V.; POLISSIOU, M.; SOKMEN, A. Antimicrobial and antioxidante activities of the essential oils and methanol extracts of *S. cryptantha* (Montbret et Aucher ex Beth.) and *S. multicaulis* (Vahl.). **Food Chemistry**, v. 84, n. 4 p. 519-525. 2004.
- BARATTA, M.T.; DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G.; FIGUEIREDO, C.; BARROSO, J.G.; RUBERTO, G. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. **Journal Flavours Fragrance**, v.13, n. 4, p. 235-244, 1998.
- BORGES, M.H.; SORES, A.M.; RODRIGUES, V.M.; ANDRILHO-ESCARSO, S.H.; DINIZ, H.; HAMAGUCHI, A.; QUINTERO, A.; LIZANO, S.; GUTIERREZ, J.M.; GIGLIO, J.R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M.I. Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A2. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, v. 127, n. 1, p. 21-30, 2000.
- BORGES, M.H.; SOARES, A.M.; RODRIGUES, V.M.; OLIVEIRA, F.; FRANSCHESCHI, A.M.; RUCAVADO, A.; GIGLIO, J.R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M.I. Neutralization of proteases from Bothrops snake venoms by the aqueous extract from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). **Toxicon**, v. 39, n. 12, p. 1863-1869, 2001.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods -a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, n.3, p. 223-53, 2004.
- CANSIAN, R.L.; MOSSI, A.; OLIVEIRA, D.; TONIAZZO, G.; TREICHEL, H.; PAROUL, N.; ASTOLFI, V.; SERAFINI, L.A. Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. *Linaloorifera fujita*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 378-384, 2010.
- COWAN, M.M. Plant products as Antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Review**, v.12, n.4, p.564-582, 1999.
- COX, S.D.; MANN, J.L.; BELL, H.C.; GUSTAFSON, J.E.; WARMINGTON, J.R.; WYLLIC, S.G. The mode of Antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (teatreeoil). **Journal of applied Microbiology**, v. 88, n. 1, p.170-175, 2000.
- DE-LA-CRUZ-MOTA, M.G.; GUARIM NETO, G. O estudo de plantas medicinais por uma abordagem holística. **Revista do Instituto de Saúde Coletiva**, v.1, p. 9-17, 1996.
- DELAMARE, A.P.; PISTORELLO, I.T.M.; ARTICO, L.; SERAFINI, L.A.; ECHEVERRIGARAY, S. Antibacterial activity of essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. **Food Chemistry**, v. 100, n. 2, p. 603-608, 2007.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.88, n. 1, p. 308-316, 2000.

ESTEVES, I.; SOUZA, I.R.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L.G.V.; SANTOS, L.S.; SERTIE, J.A.A.; PERAZZO, F.F.; LIMA, L.M.; SCHNEEDORF, J.M.; BASTOS, J.K.; CARVALHO, J.C.T. Gastric anti-ulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, n. 13, p. 191-196, 2005.

HELANDER, I.M.; ALAKOMI, H.L.; LAVTA-KALA, K.; MATTILA-SANDHOLM, T.; POL, I.; SMID, E.J.; GORRIS, L.G.M.; VON WRIGHT, A. Characterization of the action of selected essential oils components on gram-negative bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 9, p. 3590-3595, 1998.

JANSSEN, A.M.; SCHEFFER, J.J.; BAERHEIM, S.A. Antimicrobials activities of essential oils. **Pharmaceutisch Weekblad (Scientific Edition)**, v. 9, n. 4, p. 193-197, 1987.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. **Current Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 10, p. 813-829, 2003.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica e Clínica**, 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

KIM, J.; MARSHALL, M.R.; WEI, C. Antibacterial Activity of Some Essential Oil Components against Five Foodborne Pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, n. 11, p. 2839-2845, 1995.

LAMBERT, R.J.W.; PEARSON, J. Susceptibility testing accurate and reproducible minimum inhibitory concentration (MIC) and non-inhibitory concentration (NIC) values. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, p. 784-790, 2000.

LAMBERT, R.J.W.; SKANDAMIS, P.N.; COOTE, P.J.; NYCHAS, G.-J.E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, p. 453-462, 2001.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992.

MACEDO, M.; CARVALHO, J.M.K.; NOGUEIRA, F.L. **Plantas medicinais e ornamentais da área de aproveitamento múltiplo de Manso, Chapada de Guimarães, Mato Grosso**. Cuiabá, 1ª ed, Ed. UFMT; 2002.

MAISTRO, E.L.; CARVALHO, J.C.; MANTOVANI, M.S. Evaluation of the genotoxic potential of the *Casearia sylvestris* extraction HTC and V79 cells by the comet assay. **Toxicology In Vitro**, v. 18, n. 1, p. 337-342, 2003.

MALUZ, M.K.P. 2005. **Caracterização morfológica, avaliação agronômica, química e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de diferentes espécies exóticas de gênero *Salvia***. Erechim-RS. 87f. Tese de Mestrado em Biotecnologia. Instituto de Biotecnologia. Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, RS.

MATOS, F.J.A. **Plantas da medicina popular do Nordeste: propriedades atribuídas e confirmadas**. Fortaleza: Ed. UFC. 1999.

MATTOS, E.S.; FREDERICO, M.J.S.; COLLE, T.D.; PIERI, D.V.; PETERS, R.R.; PIOVEZAN, A.P. Evaluation of antinociceptive activity of *Casearia sylvestris* and possible mechanism of action. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 2, p.1-6, 2007.

NASCIMENTO, P.F.C.; NASCIMENTO, A.C.; RODRIGUES, C.S.; ANTONIOLLI, A.R.; SANTOS, P.O.; BARBOSA JÚNIOR, A.M.; TRINDADE R.C. Atividade antimicrobiana dos óleos

essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108-113, 2007.

RÍOS J.L.; RECIO M.C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal Ethnopharmacology**, v. 100, n. 4, p. 80-84, 2005.

OBERLIES, N.H.; BURGESS, J.P.; NAVARRO, H.N.; PINOS, R.E.; FAIRCHILD, C.G.R.; PETERSON, R.W.; SOEJARTO, D.D.; FARNSWORTH, N.R.; KINGHORN, A.D.; ANI, M.C.; WALL, M.E. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 2, p. 95-99, 2002.

PROBST, I.S. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico**. Dissertação 102f. (Pós- Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP) Botucatu, 2012.

SASSIOTO, M.C.P.; FILHO, N.C.; FACCO, G.G.; SODRE, S.T.; NEVES, N.; PURISCO, S.U.; FARIAS, A.G. Efeito de *Casearia sylvestris* no reparo ósseo com matriz óssea bovina desvitalizada em ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 19, n.6, p. 637-641, 2004.

SVOBODA, K.P.; DEANS, S.G. Biological activities of essential oils from selected aromatic plants. **Acta Horticulture**, v. 390, p.203-209, 1995.

YAP, P.S.X.; YIAP, B.C.; PING, H.C.; LIM, S.H.E. Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance. **The Open Microbiology Journal**, v. 8, p. 6-14, 2014.

