

**Atividade antimicrobiana *in vitro* da *punica granatum* sobre bactérias gram negativas e gram positivas**

**Antimicrobial activity *in vitro* of *punica granatum* on gram-negative and gram-positive bacteria**

DOI:10.34117/bjdv7n11-196

Recebimento dos originais: 12/10/2021

Aceitação para publicação: 11/11/2021

**Samara Felicia da Silva**

Graduanda do curso de farmácia no Centro Universitário Ingá – UNINGÁ

Instituição: Centro Universitário Ingá – UNINGÁ

Rodovia PR 317, 6114 – Parque Industrial, Maringá – PR

CEP: 87035-510

E-mail: samarafelicia26@outlook.com

**Francine Maery Dias Ferreira-Romanichen**

Doutora em Ciências da Saúde pela Universidade Estadual de Maringá – UEM

Instituição: Centro Universitário Ingá – UNINGÁ

Rodovia PR 317, 6114 – Parque Industrial, Maringá – PR

CEP: 87035-510

E-mail: prof.francineferreira@uninga.edu.br

**Tânia Mara Antonelli-Ushirobira**

Doutora em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual de Maringá – UEM

Instituição: Centro Universitário Ingá – UNINGÁ

Rodovia PR 317, 6114 – Parque Industrial, Maringá – PR

CEP: 87035-510

E-mail: prof.taniaushirobira@uninga.edu.br

## RESUMO

Os metabólitos secundários possuem diversas funções nas plantas, entre elas a de defesa contra microrganismos e, diante do aumento exponencial da resistência bacteriana, é necessário encontrar novos compostos para tratar essas infecções. A *Punica granatum* é rica em polifenólicos, conhecidos por apresentar atividade antimicrobiana. Para verificar a presença desses compostos foram realizadas as seguintes reações: gelatina, sais de ferro, acetato neutro de chumbo e vanilina clorídrica para observar os taninos, reação de Stiasny para separar os taninos condensados dos hidrolisáveis, pesquisa de açúcares liberados após hidrólise ácida para observar flavonoides e índice de espuma para saponinas. A fim de testar a atividade dessa planta foi realizado os testes de triagem do efeito, concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima. Os extratos da casca do caule, casca do fruto e folhas apresentaram flavonoides, saponinas e taninos, enquanto a polpa concentrada apresentou taninos e flavonoides, os extratos derivados dessa polpa apenas flavonoides. A maioria dos extratos apresentou atividade antibacteriana, porém em uma concentração consideravelmente alta. Esse resultado pode ser em função de uma diminuição na concentração dos metabólitos devido a fatores intrínsecos e extrínsecos da planta, sendo necessário a realização de mais análises a fim de se obter um extrato com maior atividade.

**Palavras-chave:** Atividade Antimicrobiana. Gram negativa. Gram Positiva. Polifenóis. *Punica granatum*.

## ABSTRACT

Secondary metabolites have many functions in plants, among them is defending against microorganisms and, given the exponential growth of bacterial resistance, it is necessary to find new composites to treat these infections. *Punica granatum* is rich in polyphenolics, known for having antimicrobial activity. To verify the presence of these compounds, the following reactions were performed: gelatin, iron salts, neutral lead acetate and hydrochloric vanillin to observe tannins; Stiasny reaction to separate condensed tannins from hydrolysable tannins; sugar yield research after acid hydrolysis to observe flavonoids and foam index for saponins. In order to test the activity of this plant, the screening of effect, minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration tests were carried out. The extracts of the stem bark, fruit peel and leaves presented flavonoids, saponins and tannins, while the concentrated pulp presented tannins and flavonoids, and the derivate extracts of this pulp only presented flavonoids. Most extracts showed antibacterial activity, but at a considerably high concentration. This result may be due to a decrease in the concentration of metabolites due to intrinsic and extrinsic factors of the plant, making it necessary to carry out more analyzes in order to obtain an extract with greater activity.

**Keywords:** Antimicrobial Activity. Gram Negative. Gram Positive. Polyphenols. *Punica granatum*.

## 1 INTRODUÇÃO

A *Punica granatum*, também conhecida como romã, é um arbusto lenhoso, ramificado, com folhas pequenas, rijas e membranáceas, com flores vermelha-alaranjadas que originam um fruto arredondado com sementes em camadas envolvidas por um arilo

polposo, pertencente à família *Punicaceae* (WERKMAN, et al., 2008). É uma planta nativa da região do Oriente Médio, Ásia e do Mediterrâneo. Atualmente o seu cultivo é realizado em diversas regiões do planeta devido a flexibilidade e adaptabilidade as condições climáticas da romãzeira (BACCARIN, 2015).

Os metabólitos secundários conferem as plantas mecanismos de adaptabilidade, com o objetivo de perpetuar sua espécie e sobrevivência naquele ambiente, como atrair polinizadores, atração de animais para dispensação de sementes, alelopatia, proteção contra microrganismos e herbívoros (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010). A *Punica granatum* possui em sua composição química compostos fenólicos, entre eles os flavonoides (antocianinas e catequinas) e taninos (ácido gálico, ácido elágico e elagitaninos) (BACCARIN, 2015; MELO; LUI; SILVA, 2021), alcaloides, triterpenoides, cumarinas, saponinas entre outros compostos (LIMA, 2015).

Além de ser considerada um fruto sagrado por religiosos de diversas civilizações, ela também é utilizada na medicina popular para tratar inflamações, diarreia, úlceras, parasitas, tosse e bronquite (WERKMAN, et al., 2008; BACCARIN, 2015).

Essas e outras atividades foram testadas e comprovadas, como a melhora da atividade cardiovascular, melhora do perfil lipídêmico, antiinflamatória, antitumoral, hipoglicemiante, cicatrizante, antimicrobiana, estrogênica, estimulante do sistema imunológico, antifúngica, antiviral (WERKMAN, et al., 2008; DEGÁSPARI; DUTRA, 2011; BACCARIN, 2015), para enterite pós-radioterapia, antiagregante plaquetário, para cólica uterina e ação quimioprotetora (DEGÁSPARI; DUTRA, 2011). Em grande parte dos estudos a atividade está ligada a presença do ácido elágico, ácido gálico e punicalagina (BACCARIN, 2015).

Os compostos polifenólicos possuem a mesma origem biogenética e na sua estrutura química apresentam um ou mais núcleos aromáticos com substituintes hidroxilados, derivados funcionais ou os dois. As saponinas são constituídas por glicosídeos de esteroides ou terpenos policíclicos e açúcares, lhe dando uma característica anfipática. Esses compostos auxiliam na proteção da planta contra microrganismos e herbívoros (SIMÕES, et al., 2017).

O surgimento dos antibióticos representou um grande avanço para o tratamento de infecções, entretanto, cerca de 10 anos após a descoberta da penicilina foi observado em bactérias uma enzima capaz de inativar antibióticos com anel beta lactâmico, a beta lactamase. O uso excessivo, indiscriminado e até mesmo profilático em humanos e

animais resultou na disseminação de mecanismos de resistência (FIO; MATTOS FILHO; GROppo, 2000; MOREIRA, 2004).

A resistência bacteriana representa uma grande preocupação, pois aumenta o tempo de internação, custos de tratamento, diminui as opções de tratamento e aumenta o risco de óbito do paciente (OLIVEIRA, et al., 2010), sendo necessário nesses casos a utilização de antibióticos de maior custo e amplo espectro (YOSHIOKA, et al., 2011). Diante das atividades dos metabólitos secundários, os produtos naturais mostram-se como uma alternativa para o tratamento de infecções bacterianas (SILVA; SOUZA; ESPINHEIRA, 2019).

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana da *Punica granatum* sobre as bactérias gram negativas e gram positivas.

## 2 METODOLOGIA

### Matéria prima

As amostras de *Punica granatum* (casca do fruto, casca do caule e folhas) foram obtidas entre os meses de março e junho de 2021 em uma residência na cidade de Sarandi-PR (23°27'42.534"S51°52'54.963"W). O material vegetal foi higienizado, seco a

com etanol e metanol na proporção de 100 mL de solvente para cada 500 mg de polpa (FARIA; PEREIRA, 2019). O solvente foi evaporado em banho-maria (MENDONÇA, et al., 2003). temperatura ambiente e posteriormente triturado, exceto a polpa (fruto foi apenas higienizado).

### Extração da casca do fruto, casca do caule e folhas

Foram obtidos extratos a 20% por remaceração com etanol 70% (BRASIL, 2011). As amostras vegetais e o solvente foram colocados em frasco de vidro âmbar e submetido a agitação três vezes num intervalo de 7 dias e o solvente renovado semanalmente. Após o período o solvente foi evaporado em banho-maria (MENDONÇA, et al., 2003).

Os extratos aquosos a 25% foram obtidos por extração a quente por refluxo (TELES; COSTA, 2014).

### Extração da polpa

A polpa foi separada das sementes com auxílio de grau e pistilo e posteriormente peneirado. O suco obtido foi reduzido em banho-maria em temperatura aproximada de 40°C e os polifenóis foram extraídos

### Caracterização fitoquímica

Para caracterizar a presença de taninos foi realizada as reações de gelatina, sais de ferro, acetato neutro de chumbo e vanilina clorídrica. Para separar os taninos hidrolisáveis dos condensados foi utilizado a reação de Stiasny. A pesquisa de açúcares liberados após a hidrólise ácida foi a técnica utilizada para observar a presença de flavonoides. A pesquisa de saponinas foi realizada pela avaliação do índice de espuma (HARBORNE, 1984).

### Triagem do efeito antimicrobiano do extrato

Foi utilizada a técnica de Silva (2013), com adaptações, onde as bactérias foram testadas em placas de Petri com o meio MacConkey (*Eschichia coli* e *Klebisiella pneumoniae*), Mueller Hinton Ágar (*Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Shigella flexneri*), Tryptic Soy Ágar (*Staphilococcus aureus*) e Tryptic Soy Ágar Sangue (*Serratia*). Sendo pipetado 10 µL dos extratos na concentração de 160 mg/mL sobre os microrganismos.

### Concentração inibitória mínima (CIM)

A técnica utilizada para avaliar a atividade antimicrobiana foi a microdiluição, na qual foram pipetadas 100 µL do meio de cultura Mueller Hinton Broth, 100 µL do extrato e 5 µL de suspensão bacteriana padronizada com a escala 0,5 de McFarland (DESOTI, et al., 2011).

### Concentração bactericida mínima (CBM)

Com base no resultado da CIM, foram pipetados 10 µL dos poços em uma placa de Petri com o meio MacConkey (*Eschichia coli* e *Klebisiella pneumoniae*), Mueller Hinton Ágar (*Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Shigella flexneri*), Tryptic Soy Ágar (*Staphilococcus aureus*) e Tryptic Soy Ágar Sangue (*Serratia marcescens*) (SANTURIO, et al., 2007).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade do extrato pode estar ligada principalmente a presença dos compostos polifenólicos. A ação dos taninos sobre as bactérias está relacionada com sua capacidade de se complexar com íons metálicos, antioxidante e de sequestrar radicais livres (SIMÕES, et al., 2017).

**Tabela 1.** Caracterização fitoquímica dos extratos de *Punica granatum* para a presença de taninos

Amostra	Teste 1	Teste 2	Teste 3	Teste 4	Teste 5	
					C	H
Casca do fruto	+	C	+	+	+	+
Casca do caule	+	C	+	-	+	+
Folha	+	C	+	-	+	+
Polpa concentrada	+	H	+	-	-	+
Polpa etanólica	-	-	-	-	-	-
Polpa metanólica	-	-	-	-	-	-

Legenda: Reação de gelatina (Teste 1); Reação de sais de ferro (Teste 2); Reação de acetato de chumbo (Teste 3); Reação de vanilina clorídrica (Teste 4); Reação de Stiasny (Teste 5); C (taninos condensados); H (taninos hidolisáveis).

Fonte: Autores

Os flavonoides possuem diversas funções na planta, entre elas a proteção contra bactérias. Sua ação está ligada à sua estrutura química, sua porção lipofílica interage com a membrana plasmática do microrganismo levando a perda das funções de permeabilidade e proteção, outro mecanismo descoberto é por inibição da enzima DNAgirase (BARBOSA, et al., 2014).

**Tabela 2.** Caracterização fitoquímica dos extratos de *Punica granatum* para a presença de flavonoides

Amostra	Resultado
Casca do fruto	+
Casca do caule	+
Folha	+
Polpa concentrada	+
Polpa etanólica	+
Polpa metanólica	+

Fonte: Autores.

As saponinas também são moléculas anfipáticas e devido a essa característica atuam desestabilizando membranas celulares, por meio da complexação com fosfolípidios, proteínas e esteroides (SIMÕES, et al., 2017).

**Tabela 3.** Caracterização fitoquímica dos extratos de *Punica granatum* para a presença de saponinas

Amostra	Resultado
Casca do fruto	+
Casca do caule	+
Folha	+
Polpa concentrada	-
Polpa etanólica	-
Polpa metanólica	-

Fonte: Autores.

Vieira (2014) também observou em sua análise a presença de flavonoides, saponinas e taninos na casca do fruto, já Felix (2019) observou a presença de taninos

condensados e hidrolisados. Não foram encontradas outras pesquisas que realizaram a identificação fitoquímica da casca do caule, folha e polpa.

Ao avaliar a atividade da *Punica granatum* sobre bactérias gram negativas e gram positivas foi observado a inibição do crescimento na concentração testada (160 mg/mL) na maioria dos extratos, apenas os da polpa não apresentaram efeito antibacteriano. Apesar de ter sua ação antibacteriana já comprovada, os flavonoides presentes na polpa não foram capazes de inibir o crescimento das bactérias. A concentração real dos extratos, levando em consideração a sua forma de extração, é de 80 µg/mL nos extratos da polpa, 4 mg/mL dos extratos aquosos e de 3,2 mg/mL nos extratos hidroalcóolicos.

**Tabela 4.** Triagem do efeito antimicrobiano dos extratos de *Punica granatum* sobre bactérias gram negativas e gram positivas

Bactéria	Inibição na concentração de 160 mg/mL								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	+	-	+	+	-	+
<i>Serratia marcescens</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Shigella flexneri</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Legenda: Polpa aquosa (1); Polpa etanólica (2); Polpa metanólica (3); Folha aquosa (4); Folha etanólica (5); Casca do fruto aquoso (6); Casca do fruto etanólico (7); Casca do caule aquoso (8); Casca do caule etanólico (9); inibiu (+); não inibiu (-).

Fonte: Autores

Com base nos resultados obtidos na triagem do efeito antimicrobiano (tabela 4), foram realizados os testes de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM).

**Tabela 5.** Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos de *Punica granatum*.

Bactéria	CIM (mg/mL)						CBM (mg/mL)					
	4	5	6	7	8	9	4	5	6	7	8	9
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2	1,6	2	0,2	2	0,2	2	1,6	0	0,2	2	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	2	1,6	2	-	-	-	0	1,6	0	-
<i>Escherichia coli</i>	-	0,4	2	0,4	2	0,4	-	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	2	0,4	2	0,1	-	-	0	1,6	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	-	0,5	0,4	-	0,05	0	-	0	0,8	-	0
<i>Serratia marcescens</i>	-	0,4	2	0,4	1	0,8	-	1,6	2	1,6	0	0
<i>Shigella flexneri</i>	-	1,6	0,5	0,2	0	1,6	-	0	0	0,2	0	1,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,5	0,8	1	0,0125	1	0,1	0	0	0	0	0	0

Legenda: Folha aquosa (4); Folha etanólica (5); Casca do fruto aquoso (6); Casca do fruto etanólico (7); Casca do caule aquoso (8); Casca do caule etanólico (9).

Fonte: Autores



Diversos trabalhos são encontrados relatando análises semelhantes ao realizado nessa pesquisa, porém os resultados apresentaram significativa variação entre si e em relação aos obtidos nesse experimento. Yu (2020) analisou a casca do fruto sobre cepas clínicas de *Acinetobacter baumannii* e obteve CIM de 3,12 mg/mL e CBM de 3,12 a 12,5 mg/mL. Sobre a *Enterococcus faecalis* Schreiner (2016) observou no extrato da casca do fruto uma CIM de 10 mg/mL e CBM de 50 mg/mL. Em seu estudo, Gallas (2017) obteve sobre a *Enterococcus faecalis* uma CIM de 50 mg/mL e CBM de 75 mg/mL no extrato da casca do fruto e no extrato da folha uma CIM e CBM de 50 mg/mL, sobre a *Staphylococcus aureus* ambos os extratos apresentaram uma CIM de 12,5 mg/mL, essa mesma concentração foi obtida na CBM do extrato da casca do fruto e a da folha foi de 50 mg/mL, sobre a *Escherichia coli* nos dois extratos a CIM foi de 25 mg/mL e CBM de 50 mg/mL, esse valor de CIM também foi observado por Michelin e colaboradores (2005) no extrato da casca do fruto, neste estudo também foi avaliado a *Pseudomonas aeruginosa* e a inibição mínima foi na concentração de 40 mg/mL.

A discrepância entre alguns resultados pode ser em função de vários fatores, como diferenças sazonais, variação de temperatura e período do dia em que a coleta do material vegetal foi coletado, nível de desenvolvimento da planta, nível de desenvolvimento do órgão a ser coletado, intensidade e quantidade da incidência luminosa, índice pluviométrico, altitude do local, nutrientes do solo, poluição atmosférica, existência de estímulos mecânicos e/ou ataque de patógenos, influenciam diretamente na concentração dos metabólitos secundários nas plantas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Os métodos utilizados para a produção dos extratos também corroboram para os resultados discrepantes, pois o método extrativo, tempo de extração, temperatura, grau de divisão da droga vegetal, solvente utilizado, a concentração do mesmo e sua polaridade afetam a retirada dos compostos da planta (OLIVEIRA, et al., 2016).

#### 4 CONCLUSÃO

A *Punica granatum* possui atividade contra bactérias Gram negativas e Gram positivas e esta ação está relacionada a sua composição química que envolve, principalmente compostos polifenólicos. No entanto, fatores intrínsecos e extrínsecos podem ter diminuído a concentração dos metabólitos, principalmente os taninos, sendo necessária uma concentração elevada dos extratos para inibir as bactérias. Mesmo sendo um estudo preliminar e a necessidade de mais análises para se obter extratos com uma melhor atividade, a romã pode ser um caminho para driblar a resistência bacteriana.



## REFERÊNCIAS

- BACCARIN, T. **Desenvolvimento de nanoemulsões contendo constituintes de *punica granatum* para aplicação cutânea visando sua utilização na fotoproteção.** 2015. 290f. Tese (Doutorado em farmácia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.
- BARBOSA, V., et al. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. e tintura de própolis frente à bactéria causadora da acne *Propionibacterium acnes*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.** v. 16, n. 2, p. 169-173, Campinas, 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos Farmacopeia Brasileira.** Brasília: Anvisa, 2011. 126p.
- DEGÁSPARI, C. H.; DUTRA, A. P. C. Propriedades fitoterápicas da romã (*Punica granatum* L.). **Visão Acadêmica.** v. 12, n. 1, p. 36-46, janeiro-junho, 2011.
- DESOTI, V. C., et al. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arquivos de Ciência da Saúde UNIPAR.** v. 15, n. 1, p. 3-13, Umuarama, janeiro-abril, 2011.
- FARIA, M. T.; PEREIRA, S. M. F. Avaliação da atividade antioxidante e características físico-químicas de polpa de romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Científica da FMC.** v. 14, n. 2, 2019.
- FELIX, R. C. S. **Atividade nematicida *in vitro* da casca do fruto da casca de *punica granatum* L. sobre helmintos gastrointestinais de caprinos.** 2019. 45f. Monografia (Bacharel em Biotecnologia) – Universidade Federal Rural de Semi-Árido, Mossoró, 2019.
- FIO, F. S. D; MATTOS FILHO, T. R.; GROppo, F. C. Resistência bacteriana. **Revista Brasileira de Medicina,** v. 57, n. 10, p. 1129-1140, 2000.
- GALLAS, J. A. **Potencial antimicrobiano de extratos derivados da romã (*Punica granatum* L.) contra patógenos relacionados a infecção endodôntica.** 2017. 82f. Dissertação (Mestrado em odontologia restauradora) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas Mediciniais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova.** v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- HARBORNE, J. **Phytochemical ethods: a guide to modern techniques of plant analysis.** 2 ed., London, Chapman and Hall, 1984.
- LIMA, T. M. Peeee. **Ação do extrato de *Punica granatum* Linn na cicatrização cutânea.** 2015. 71f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde) – Universidade Federal Fluminense, 2015.

MELO, F. J. S.; LUI, C. C.; SILVA, V. A. Propriedades farmacológicas da droga vegetal *Punica granatum L.* **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**. v. 7, n. 6, p. 202-210, São Paulo, junho, 2021.

MENDONÇA, C. V. C. E., et al. Quantificação de polifenóis e digestibilidade proteica de famílias de feijão comum. **Ciência Agrotecnológica**. v. 27, n. 4, p. 858-864, Lavras, julho/agosto, 2003.

MICHELIN, D. C., et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15, n. 4, p. 316-320, outubro/dezembro, 2005.

MOREIRA, L. B. Princípios para o uso racional de antibióticos. **Revista AMRIGS**. v. 48, n. 2, p. 118-120, abril-junho, 2004.

OLIVEIRA, A. C., et al. Resistência bacteriana e mortalidade em um centro de terapia intensiva. **Revista Latino-Americana Enfermagem**, v. 18, n. 6, novembro-dezembro, 2010.

OLIVEIRA, V. B., et al. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por Clade de *dicksonia sellowiana* (*presl.*). Hook, *dicksoniaceae*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 18, n. 1, suplemento 1, p. 230-239, 2016.

SCHREINER, F. **Análise da utilização endodôntica do gel produzido à base do extrato hidroglicólico do pericarpo de *Punica granatum L.* (ROMÃ) contra *Enterococcus faecalis*: efeito antimicrobiano toxicidade**. 2016. 111f. Tese (Doutorado em Odontologia – Área de concentração em Clínica Integrada) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2016.

SANTURIO, J. M., et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* entérica de origem avícola. **Ciência Rural**. v.37, n.3, p.803-808, Santa Maria, maio-junho, 2007.

SILVA, J. J. **Triagem antimicrobiana de extratos vegetais contra isolados ambientais de *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (ORSA)**. 2013. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2013.

SILVA, S. R.; SOUZA, F. M.; ESPINHEIRA, M. J. C. L. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial das sementes de *Passiflora edulis Sims* frente às bactérias Gram Positivas e Gram Negativas. **Id on Line Revista Multidisciplinar e de Psicologia**, v. 13, n. 43, p. 1003-1017, 2019.

SIMÕES, C. M. O.; et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017, p. 208-234, 284-302.

TELES, D. G.; COSTA, M. M. Estudo de ação antimicrobiana conjunta de extratos aquosos de Tansagem (*Plantago major* L., Plantaginaceae) e Romã (*Punica granatum* L., Punicaceae) e interferência dos mesmos na ação da amoxicilina *in vitro*. **Revista brasileira de plantas mediciniais**. v.16, n2, supl.1, Botucatu, 2014.

VIEIRA, A. C. S. **Avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatório do extrato etanólico de *Punica granatum* L. (ROMÃ)**. 2014. 61f. Deissertação (Mestrado em enfermagem) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2014. ee

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 16 p.

WERKMAN, C., et al. Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 21, n. 10, p. 104-111, 2008.

YOSHIOKA, C. R. M., et al. Análise das cepas de *Streptococcus pneumoniae* causadores de pneumonia invasiva: sorotipos e sensibilidade a antimicrobianos. **Jornal de Pediatria**, v. 87, n. 1, 2011.

YU, A. R. **Atividade antimicrobiana e antibiofilme de diferentes extratos naturais sobre cepas clínicas multirresistentes de *Acinetobacter baumannii***. 2020. 59 f. Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) – Universidade Estadual Paulista, São José dos Campos, 2020.